

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

VERTRETEN DURCH

H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

177. BAND, 5. HEFT

MIT 21 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 3. NOVEMBER 1960)



SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J.F. BERGMANN · MÜNCHEN

1960

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J.F. Bergmann, Band 63—127 (1944) München, J.F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann, und Berlin, Springer.

Die „Zeitschrift für analytische Chemie“ erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen“ selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0,30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie“ enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

**Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.**

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostensatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag

Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30

Fernsprecher 27901

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3

Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann

München 27, Trogerstraße 56

Fernsprecher 440535

Band 177

Inhaltsverzeichnis Originalabhandlungen

Heft 5

KAINZ, G., und H. HORWATITSCH, Über sehr wirksame Rohrfüllungen zur C-H-Bestimmung. Mit 4 Textabbildungen	321
JACKWERTH, E., und H. SPECKER, Versuche zur fraktionierten Extraktion von Kationen und Anionen. Mit 6 Textabbildungen	327
LEWANDOWSKI, A., und H. WIERZBICKA, Quantitative Bestimmung heterocyclischer Verbindungen mittels Ionenaustauscherpapier. Mit 2 Textabbildungen	334
STUCK, W., Die Bestimmung von Schwefelsäure neben anorganischen und organischen Säuren durch potentiometrische Titration in Methanol. Mit 1 Textabbildung	338
KAINZ, G., und H. HORWATITSCH, Über die Oxydationsleistung von Mischpräparaten bei der C-H-Analyse. Mit 5 Textabbildungen	344
HOFFMANN, E., Determination of Sodium Sulphate, Calcium Chloride and Sodium Chloride in Gypsum Plaster	353

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Analytischen Institut der Universität Wien

Über sehr wirksame Rohrfüllungen zur C-H-Bestimmung

Von

GERALD KAINZ und HEINZ HORWATITSCH

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Juni 1960)

In einer früheren Arbeit⁴ haben wir die Oxydationsleistung verschiedener Oxydpräparate in *Kohlendioxydatmosphäre* untersucht und gefunden, daß die Oxydationsleistung in erster Linie vom Ausmaß der Oxydoberfläche abhängt: mit zunehmender Oberfläche steigt die Wirksamkeit der Oxydpräparate an. Außerdem sind gewisse Zusätze imstande, die Aktivität eines Oxyds zu erhöhen (bei Kupferoxyd: Ag, Cr₂O₃ und Co₃O₄). Durch Auswertung dieser Befunde gelangten wir zu sehr wirksamen Oxydschichten für die N-Bestimmung.

Es schien nun wünschenswert, die Faktoren zu ermitteln, von denen die Oxydationsleistung eines Oxyds in *Sauerstoffatmosphäre* abhängt, um auch für die C-H-Bestimmung besonders wirksame Oxydationschichten zu erhalten; auch die Unterschiede gegenüber Kohlendioxydatmosphäre schienen von Interesse. Zur Untersuchung zogen wir verschiedene Kupferoxydpräparate, gefälltes Mangandioxyd sowie gefälltes Kobaltoxyd heran.

I. Kupferoxyd

Wir gingen von dem heute üblichen drahtförmigen Kupferoxyd aus und zerkleinerten es auf verschiedene Korngrößen. Dann ermittelten wir die Oxydationsleistung dieser Präparate, indem wir eine gemessene Menge Methan bei verschiedenen Temperaturen darüberleiteten und den verbrannten Anteil bestimmten.

Abb. 1 zeigt das Ergebnis. Man sieht, daß die Oxydationsleistung um so größer ist, je kleiner die Korngröße des Präparats gewählt wird. Beispielsweise oxydiert eine 2,5 cm lange Schicht Kupferoxyd von 67 μ mittlerer Korngröße Methan schon bei 550°C quantitativ. Eine weitere Steigerung erreichten wir, als wir zu gefälltem Kupferoxyd übergingen, dessen Korngröße etwa 0,1 μ betrug. Dieses oxydierte Methan bereits bei 445°C vollständig (2,5 cm-Schicht).

Vergleicht man diese Ergebnisse mit denen in Kohlendioxydatmosphäre (2. Mitt.⁴), so erkennt man, daß in beiden Fällen eine Abhängigkeit von der *Korngröße* (und damit von der Oberfläche) des Präparats besteht. Die Verbrennungskurven sind jedoch nicht identisch; sie sind in

Sauerstoffatmosphäre zu tieferen Temperaturen hin verschoben. Dies bedeutet, daß ein und dasselbe Präparat in Sauerstoff oxydativ wirksamer ist als in Kohlendioxyd.

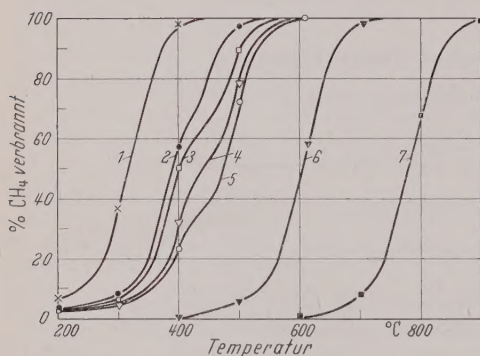


Abb. 1. Oxydation von Methan an Kupferoxyd verschiedener Korngröße in Sauerstoff (2,5 cm-Schicht). 1 gefülltes Kupferoxyd; 2 Korngröße 0,06–0,07 mm; 3 Korngröße 0,09–0,15 mm; 4 Korngröße 0,15 bis 0,30 mm; 5 Korngröße 0,30–0,75 mm; 6 grobes Kupferoxyd; 7 leeres Rohr

Kupferoxyd in Sauerstoffatmosphäre könnte man annehmen, daß Methan nicht nur vom Kupferoxyd, sondern zusätzlich auch vom Sauerstoff der Gasphase oxydiert wird.

Betrachtet man das *Ausmaß der Verschiebung*, so sieht man, daß diese recht unterschiedlich ist und mit zunehmender Korngröße ansteigt (Abb. 2): bei einer Korngröße von $0,1 \mu$ beträgt die Differenz $20\text{--}30^\circ\text{C}$, bei 500μ hingegen 210°C . Damit dürfte allerdings der Höchstwert erreicht sein; bei größeren Präparaten nimmt die Differenz wieder ab und beträgt bei drahtförmigem Kupferoxyd nur 90°C (vgl. 1. Mitt.³).

Zur Erklärung der verbesserten Oxydationsleistung von Sauerstoff der Gasphase oxydiert wird. Zur Prüfung dieser Annahme leiteten wir Methan und Sauerstoff durch ein mit Quarzwolle gefülltes Rohr und ermittelten den verbrannten Anteil. Abb. 1, Ziffer 7 zeigt, daß die Reaktion in der Gasphase erst bei höheren Temperaturen einsetzt als die an zerkleinertem Kupferoxyd; sie kommt daher als Erklärung nicht in Frage.

Nach diesen Befunden muß also die *Ursache der unterschiedlichen Oxydationsleistung beim Oxyd selbst* liegen. Bei der Ermittlung der Ursache kam uns eine frühere Arbeit⁵ zu-

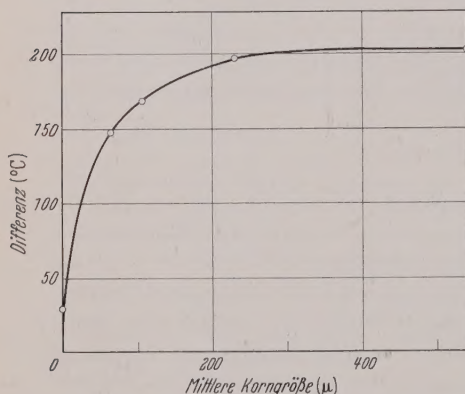


Abb. 2. Verschiebung der Verbrennungskurven in Sauerstoff-Atmosphäre gegenüber Kohlendioxyd-Atmosphäre bei verschiedenen Korngrößen von Kupferoxyd

staten. Wir hatten dort beobachtet, daß die Oxydationsleistung von Kupferoxyd vom Ausmaß der Kupfer(II)-oxydoberfläche abhängt. Wird diese verkleinert, indem Kupfer(II)-oxyd zu Kupfer(I)-oxyd dissoziiert,

so sinkt die Oxydationsleistung ab. Wird sie hingegen vergrößert, indem man das durch Dissoziation entstandene Kupfer(I)-oxyd wieder oxydiert, so steigt die Oxydationsleistung an. Bei gegebener Oberfläche entscheidet also das Verhältnis von Kupfer(II)-oxyd zu Kupfer(I)-oxyd.

In Sauerstoffatmosphäre liegt nun dieses Verhältnis mehr auf der Seite von Kupfer(II)-oxyd, da Sauerstoff die Stabilität des höheren Oxyds erhöht. Kohlendioxyd begünstigt hingegen den Zerfall von Kupfer(II)-oxyd. Hierdurch ergibt sich eine Differenz in der Oxydationsleistung (Verschiebung der Verbrennungskurve).

Abb. 2 zeigt nun, daß diese Differenz unterschiedlich ist und von der Korngröße abhängt. Dies ist dadurch zu erklären, daß der Zerfall von Kupfer(II)-oxyd in Kohlendioxydatmosphäre temperaturabhängig ist und mit der Temperatur zunimmt. Präparate, deren Verbrennungskurven bei höheren Temperaturen liegen (grobkörnige Präparate), müssen daher in Kohlendioxyd einen größeren Leistungsabfall aufweisen als Präparate, deren Verbrennungskurven bei niederen Temperaturen liegen (feinkörnige Präparate). Dies findet man in Abb. 2 voll bestätigt.

In Sauerstoff ist noch ein weiterer Vorgang zu berücksichtigen, der die Differenz zwischen der Leistung in Sauerstoff und Kohlendioxyd zusätzlich vergrößert: es ist dies die *Regenerierung der aktiven Zentren* durch Sauerstoff. Wird nämlich eine organische Substanz über Kupferoxyd geleitet, so wird sie zunächst chemisorbiert und dann über sauerstoffhaltige Zwischenprodukte zu Wasser und Kohlendioxyd abgebaut (KAINZ u. HORWATTSCH⁶). Dieser Vorgang erfolgt an den aktiven Zentren der Kupfer(II)-oxydoberfläche, die dabei reduziert werden. Die Reduktion ist über einen gewissen Zeitraum verteilt, da die organische Substanz beim Vergasen nicht in Form eines Pfropfens, sondern in kleinen Anteilen zur Oxydationsschicht gelangt.

Wird nun *Kohlendioxyd als Spülgas* verwendet, so werden die reduzierten Stellen nicht mehr regeneriert und die Oxydationsleistung sinkt während des Durchganges einer Probe ab. Wird jedoch *Sauerstoff als Spülgas* benützt, so werden die reduzierten Stellen bereits während des Durchganges der Probe regeneriert und je Zeiteinheit treten mehr aktive Stellen mit der Probe in Wechselwirkung als in nichtoxydierender Atmosphäre.

Die Regenerierung der aktiven Zentren muß sich um so mehr auswirken, je weniger aktive Zentren in einem Präparat vorhanden sind. Dies trifft bei Präparaten mit relativ kleiner Oberfläche (große Korngröße) zu. Ist jedoch die Anzahl der aktiven Stellen sehr groß, so sind primär bereits genügend aktive Stellen zur Umsetzung vorhanden, und man gelangt zu einem Grenzwert, wo die Oxydationsleistung in Kohlendioxyd gleich wird der Leistung in Sauerstoff. Auch dies findet man bei Kupferoxydpräparaten mit sehr großer Oberfläche (gefälltes Kupferoxyd) bestätigt.

II. Mangandioxyd

Wir verwendeten Mangandioxyd in gefällter Form, um von vornherein eine maximale Oxydationsleistung zu erzielen. Dieses Produkt oxydiert Methan bereits bei 410°C (2,5 cm-Schicht; siehe Abb. 3a, Kurve 1). Zum Vergleich haben wir auch die Verbrennungskurve in Kohlendioxyd aufgenommen. Diese erreicht ebenfalls bei 410°C den 100%-Wert

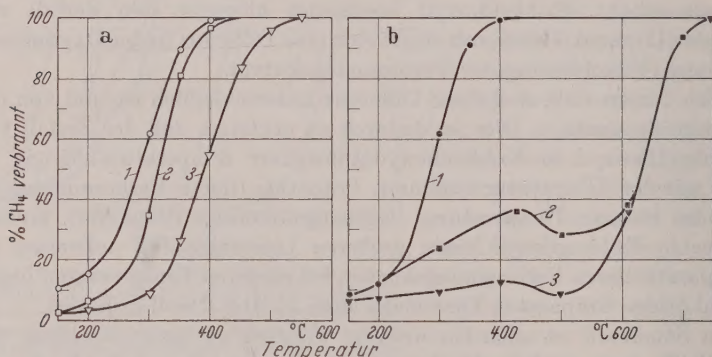


Abb. 3a u. b. Oxydation von Methan an gefälltem Mangandioxyd (2,5 cm-Schicht). a in Sauerstoffatmosphäre; b in Kohlendioxydatmosphäre; 1 unbehandeltes Oxyd; 2 nach Tempern bei 500°C ; 3 nach Tempern bei 600°C

(Abb. 3b, Kurve 1) und deckt sich innerhalb der Versuchsfehler mit der Kurve in Sauerstoff. Diese Übereinstimmung zwischen Sauerstoff- und Kohlendioxydatmosphäre zeigt, daß in beiden Fällen die wirksame Oberfläche, die in diesem Falle aus Mangandioxyd besteht, zumindest bis 410°C erhalten bleibt.

In Analogie zu Kupferoxyd ist jedoch ein Unterschied zwischen der Oxydationsleistung in Sauerstoff und Kohlendioxyd zu erwarten, wenn man Mangandioxyd auf Temperaturen erhitzt, bei denen es zu einer Dissoziation von MnO_2 zu Mn_2O_3 kommt. Wir erhitzen also Mangandioxyd auf 500 bzw. 600°C und leiteten in einem Falle Sauerstoff, in anderem Falle Kohlendioxyd darüber. Von diesen Präparaten nahmen wir dann Verbrennungskurven auf. In Abb. 3a, Ziffer 2 und 3, sind die Verbrennungskurven nach Tempern in Sauerstoff, in Abb. 3b, Ziffer 2 und 3 nach Tempern in Kohlendioxyd wiedergegeben. Man sieht, daß das Tempern in Sauerstoff lediglich eine Verschiebung der Verbrennungskurve verursacht und der 100%-Wert wird bei 460°C (Kurve 2) bzw. bei 560°C (Kurve 3) erreicht. In Kohlendioxyd wird hingegen das Präparat durch das Tempern so geschädigt, daß es erst bei 760°C den 100%-Wert erreicht.

Die Oxydationsleistung hängt also davon ab, wie groß das Verhältnis $\text{MnO}_2/\text{Mn}_2\text{O}_3$ an der Oberfläche des Präparates ist. In Sauerstoff liegt diese Relation mehr auf der Seite von MnO_2 , während in Kohlendioxyd

eine Verschiebung nach dem weniger wirksamen Mn_2O_3 eintritt. Wie man aus Abb. 3b, Kurve 2, folgern kann, wird MnO_2 in Kohlendioxydatmosphäre bereits bei $500^\circ C$ weitgehend zu Mn_2O_3 zersetzt.

Diese Versuche zeigen, daß gefälltes Mangandioxyd als Oxydations-schicht in Sauerstoffatmosphäre gut brauchbar, in Kohlendioxydatmosphäre hingegen weniger zu empfehlen ist. Dies stimmt mit unseren früheren Befunden bei der Stickstoffbestimmung überein (KAINZ u. HAINBERGER²).

III. Kobalt(II, III)-oxyd

Wir haben dieses Oxyd ebenfalls in gefällter Form verwendet. Die Versuche in Sauerstoff (Abb. 4, Ziffer 1) zeigen, daß Kobalt(II,III)-oxyd die bisher erwähnten Präparate an Wirksamkeit übertrifft: eine 2,5 cm lange Schicht oxydiert Methan bereits bei $345^\circ C$ quantitativ. Kobalt(II,III)-oxyd in Sauerstoff ist auch wesentlich wirksamer als dasselbe Oxyd in Kohlendioxyd, wo die Mindesttemperatur bei gleicher Schichtlänge bei $530^\circ C$ liegt. Die Verbrennungskurve in Sauerstoff ist also für das Präparat derselben Korngröße um etwa $200^\circ C$ zu niederen Temperaturen hin verschoben.

Die Aktivitätserhöhung kann auf Grund der Beobachtung erklärt werden, daß das Kobaltpräparat, das vorher in Kohlendioxyd erhitzt worden war, begierig Sauerstoff aufnimmt und in eine sauerstoffreichere Form übergeht.

Bezüglich der Konstitution dieses sauerstoffreicheren Oxyds fanden wir in der Literatur unterschiedliche Ansichten: es wird als Co_2O_3 oder als $Co_3O_4 \cdot xO_2$ formuliert. Nach LE BLANC¹ liegt lediglich eine Adsorptionverbindung von Sauerstoff an Co_3O_4 vor, wobei die adsorbierte Sauerstoffmenge so groß sein kann, daß ein Oxyd der Formel Co_2O_3 vorgetauscht wird. MERCK u. WEDEKIND⁷ nehmen hingegen auf Grund von magnetischen Messungen eine feste Lösung von Co_2O_3 in Co_3O_4 an.

Für die Leistung von Kobaltoxyd ist also wie bei den anderen Oxyden das Verhältnis der höheren zur niederen Oxydationsstufe an der Oxydoberfläche maßgebend. Bei Kobalt ist das höhere Oxyd nur in Sauerstoffatmosphäre (bis etwa $350^\circ C$) beständig, während es in Kohlendioxyd bereits vollständig in die niedere Oxydationsstufe (Co_3O_4) zerfallen ist.

Vergleichende Betrachtungen

Vergleicht man die Oxydationsleistung der untersuchten Präparate miteinander, so sieht man, daß die *gefällten* Präparate wesentlich wirksamer sind als das heute meist übliche grobe Kupferoxyd; sie erreichen

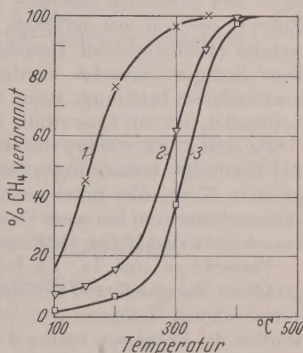


Abb. 4. Oxydation von Methan an verschiedenen Oxydpräparaten in Sauerstoff (2,5 cm-Schicht). 1 gefälltes Kobaltoxyd; 2 gefälltes Mangandioxyd; 3 gefälltes Kupferoxyd

denselben Oxydationseffekt bereits bei Temperaturen, die um 280 bis 380°C tiefer liegen. Die Oxydationsleistung der gefällten Präparate hängt vom Kation des Oxyds ab und steigt von Kupferoxyd über Mangandioxyd zu Kobaltoxyd an. Das wirksamste Oxyd ($\text{Co}_3\text{O}_4 \cdot x\text{O}_2$) oxydiert das überaus resistente Methan in einer Schichtlänge von 2,5 cm bereits bei 345°C quantitativ. Die Mindesttemperatur von $\text{Co}_3\text{O}_4 \cdot x\text{O}_2$ liegt daher um 380°C tiefer als die von grobem Kupferoxyd unter denselben Bedingungen.

Experimentelles

Versuche zu Abb. 1. Es wurde die übliche C-H-Apparatur benützt, die mit einer Gasbürette (zur Abmessung von Methan) verbunden war (vgl.³). Die Rohrfüllung bestand aus einer 2,5 cm langen Schicht Kupferoxyd verschiedener Korngröße. Die Kupferoxydpräparate wurden durch Zerkleinern von drahtförmigem Kupferoxyd und Aussieben mehrerer Fraktionen hergestellt. Das Präparat von Abb. 1, Ziffer 1, bestand aus gefälltem Kupferoxyd. Als Spülgas wurde Sauerstoff verwendet (4 ml/min). Zur Umsetzung gelangten etwa 4 ml Methan, die allmählich dem Spülgas zugesetzt wurden. Die entstandene Kohlendioxydmenge wurde gravimetrisch bestimmt. Beim Versuch von Abb. 1, Ziffer 7, wurde ein Quarzrohr verwendet, das mit Quarzwolle beschickt war; die Länge des Ofens betrug 2,5 cm.

Zu Abb. 2. Es wurden die Abb. 1 der vorliegenden Arbeit und die Abb. 2 der 2. Mitteilung⁴ herangezogen und die Verbrennungskurven der Präparate mit gleicher Korngröße miteinander verglichen. Hierzu bestimmten wir die Temperaturdifferenzen bei einer Oxydationsleistung von 100, 90, 80, 60 und 40% und berechneten daraus den Mittelwert.

Versuche zu Abb. 3a. Als Rohrfüllung wurde eine 2,5 cm lange Schicht von gefälltem Mangandioxyd benützt und die Oxydationsleistung dieses Präparates bei verschiedenen Temperaturen bestimmt. Für die Versuche der Kurven 2 und 3 wurden die Präparate vorher 2 Std bei 500°C bzw. 600°C unter Durchleiten von Sauerstoff getempert.

Versuche zu Abb. 3b. Diese wurden wie die Versuche der Abb. 3a durchgeführt; als Spülgas diente jedoch Kohlendioxyd.

Versuche zu Abb. 4. Gefälltes Kobaltoxyd, hergestellt durch Fällung von Kobaltnitrat mit Ammoniak, wurde 1 Std in Sauerstoff auf 400°C erhitzt, um das restliche Nitrat zu zersetzen. Mit einer 2,5 cm langen Schicht wurde dann die Verbrennungskurve von Ziffer 1 aufgenommen.

Zusammenfassung

Es wurden die Faktoren ermittelt, die für die Oxydationsleistung verschiedener Oxydpräparate in Sauerstoffatmosphäre maßgeblich sind. Demnach hängt die Oxydationsleistung in entscheidendem Maße von der Oberfläche und damit von der Korngröße des Präparates ab. Am wirksamsten sind durch Fällung hergestellte Präparate. Bei gegebener Größe der Oberfläche hängt die Wirksamkeit von dem Anteil der höheren Oxydationsstufe in dieser Oberfläche ab. Sauerstoff als Spülgas begünstigt die Stabilität der höheren Oxydationsstufe, während Kohlendioxyd die Zersetzung zum niederen Oxyd fördert, das weniger wirksam ist. Ein Präparat weist daher dann eine unterschiedliche Leistung in Sauerstoff bzw. Kohlendioxyd auf, wenn sich die Zusammensetzung der Oberfläche ändert.

Die Mindesttemperaturen der gefällten Präparate betragen für eine 2,5 cm lange Schicht: bei Kobaltoxyd 345°C, bei Mangandioxyd 410°C und bei Kupferoxyd 445°C. Die genannten Oxyde sind daher sehr leistungsfähig und ermöglichen, die Temperatur der Rohrfüllung bei der C-H-Analyse zu senken, sowie die Strömungsgeschwindigkeit des Spülgases wesentlich zu erhöhen.

Literatur

¹ LE BLANC, M., u. E. MÖBIUS: Z. physik. Chem. A **142**, 151 (1929). — ² KAINZ, G., u. L. HAINBERGER, S. J.: diese Z. **169**, 406 (1959). — ³ KAINZ, G., u. H. HORWATITSCH: diese Z. **175**, 166 (1960). — ⁴ KAINZ, G., u. H. HORWATITSCH: diese Z. **175**, 272 (1960). — ⁵ KAINZ, G., u. HORWATITSCH: diese Z. **176**, 17 (1960). — ⁶ KAINZ, G., u. H. HORWATITSCH: Mikrochim. Acta (Wien), im Druck. — ⁷ MERCK, F., u. E. WEDEKIND: Z. anorg. Chemie **186**, 49 (1930).

Univ.-Dozent Dr. GERALD KAINZ,
Analytisches Institut der Universität, Wien IX, Währinger Straße 38

Aus dem Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie, Dortmund-Aplerbeck, in Zusammenarbeit mit der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

Versuche zur fraktionierten Extraktion von Kationen und Anionen

Von

EWALD JACKWERTH und HERMANN SPECKER

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Juli 1960)

In systematischen Versuchen über das Verteilungsverhalten anorganischer Schwermetallkationen konnten wir mit neuen Untersuchungsmethoden genaue Angaben über Halogenid- und Solvensligandenzahlen zahlreicher extrahierbarer Komplexverbindungen machen². In vielen Fällen ist die Zusammensetzung der extrahierten Verbindungen von den Konzentrationsverhältnissen der wäßrigen Phase abhängig. Ebenso ergab sich bei gleichen Bedingungen in der wäßrigen Phase eine Abhängigkeit der Zusammensetzung der Verbindung vom verwendeten organischen Lösungsmittel⁴. Bei der bisher immer beobachteten konstanten Koordinationszahl des extrahierten Schwermetall-Zentralatoms können Halogenid- und Solvensliganden gegeneinander ausgetauscht werden. Es werden nach unseren Beobachtungen um so mehr Solvensliganden gebunden, je besser die Extraktionsfähigkeit des organischen Lösungsmittels, d. h. je größer der Verteilungskoeffizient

des Zentralkations ist. Zum Unterschied von den in wäßriger Phase zum Teil vorliegenden höher geladenen Komplexverbindungen konnten in der organischen Phase bis jetzt von uns nur ungeladene oder einfach negativ geladene Komplexverbindungen mit Sicherheit nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse wurden an Systemen gewonnen, bei denen die Extraktion jeweils nur eines Elementes aus der wäßrigen Phase beobachtet wurde. Die folgenden Untersuchungen befassen sich mit der Extraktion mehrerer Kationen nebeneinander, deren Extraktionsverhalten bei sukzessiver Zugabe des entsprechenden Anions verfolgt wurde.

Experimentelle Durchführung

a) Konduktometrische Extraktionstitration

Das Extraktionsverhalten von je 0,5 m Mol Quecksilber(II)-nitrat und Wismutnitrat aus schwach salpetersaurer Lösung mit Cyclohexanon bei sukzessiver Zugabe von 0,1 m Lithiumjodidlösung zeigt Abb. 1.

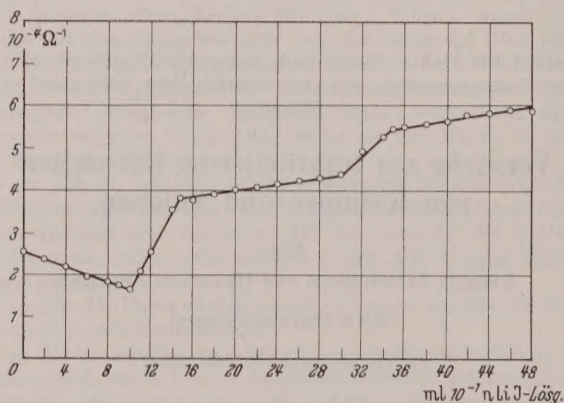


Abb. 1. Konduktometrische Extraktionstitration von Hg^{2+} und Bi^{3+} mit Jodid in Cyclohexanon. Vorgelegt: 5 ml 10^{-1} m $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung, 5 ml 10^{-1} m $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ -Lösung, 20 ml Cyclohexanon

Im Verlauf der Zugabe von 0–5 mMol Jodid treten 4 Knickpunkte in der Leitfähigkeitskurve auf, die sich nacheinander der Extraktion von HgJ_2 , Umsetzung des extrahierten HgJ_2 zu HgJ_3^- , Extraktion von BiJ_3 , Umsetzung zu BiJ_4^- zuordnen lassen. Die steilen Kurvenäste zeigen die Extraktion der Ionen HgJ_3^- und BiJ_4^- an; die kleinen Anstiegsänderungen dazwischen beruhen auf der Blindextraktion der anderen Reaktionspartner. Man erhält demnach durch konduktometrische Extraktionstitration ein klares Bild der Extraktions- und Umwandlungsfolge der Quecksilber- und Wismutjodoverbindungen. Dieses sehr einfache Verfahren³ läßt sich leider nicht auf beliebig viele Elemente fortsetzen, da einmal die Extraktion einiger Elemente nicht mit gut

meßbaren Änderungen der Leitfähigkeit in der organischen Phase verbunden ist und ferner durch den zunehmenden Elektrolytgehalt in der organischen Phase die Knickpunkte undeutlicher werden.

b) Röntgenfluoreszenz-spektroskopische Analyse der Phasen

Die Röntgenfluoreszenzanalyse ermöglicht in kurzer Zeit und mit guter Genauigkeit die Bestimmung von Stoffgemischen.

Wir verwendeten folgende Versuchsanordnung: Zu 10 ml einer schwach salpetersauren Lösung mit je 0,2 m Mol Hg^{2+} , Bi^{3+} , Cd^{2+} , In^{3+} und Zn^{2+} wurden sukzessiv 0,1–5,0 mMole Jodid als Kaliumjodidlösung gegeben und mit Wasser auf jeweils

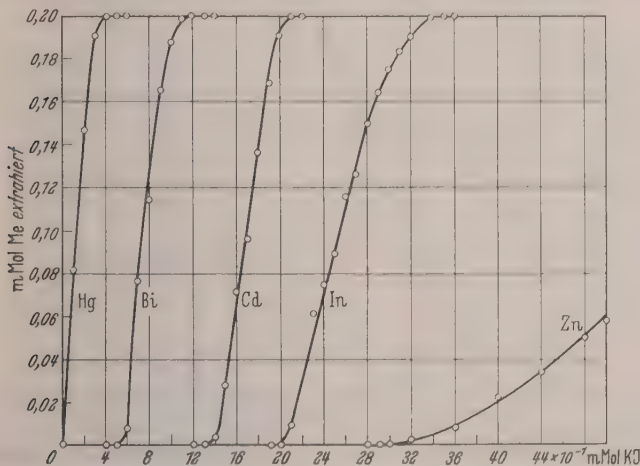


Abb. 2. Fraktionierte Extraktion von je 0,2 m Mol Hg^{2+} , Bi^{3+} , Cd^{2+} , In^{3+} und Zn^{2+} mit Tributylphosphat bei sukzessiver Zugabe von Kaliumjodid

15 ml aufgefüllt. Danach wurde mit 20 ml Cyclohexanon oder Tributylphosphat extrahiert und die wäßrige Phase röntgenfluoreszenzspektroskopisch analysiert. Als Analysengerät stand das Kristalloflex IV mit Fluoreszenzzusatz der Fa. Siemens und Halske zur Verfügung. (Wolfram-Hochleistungsröhre; Anregung 35 kV, 30 Milliamp.; LiF-Analysator; Scintillationszähler mit Diskriminator.) Gemessen wurden jeweils die Durchlaufzeiten für 10^5 Impulse der K_{α} -Linie (Zn, Cd, In) bzw. L_{α} -Linie (Hg, Bi) erster Ordnung.

In den Eichkurven ist die Intensitätsbeeinflussung durch dritte Partner berücksichtigt. Die aus den gemessenen Impulszahlen in Konzentrationen umgerechneten Werte für die organischen Phasen sind in der Abb. 2 dargestellt. Man erkennt eine genau definierte Reihenfolge bei der Extraktion dieser Jodide; zuerst wird das Quecksilber, dann Wismut, Cadmium, Indium und als letztes Element Zink extrahiert. Zugleich läßt sich beim Quecksilber, Wismut und Cadmium neben der Extraktion noch die Umwandlung der zuerst extrahierten Jodide in

Jodometallate ablesen, bevor das nachfolgende Element extrahiert wird. Beim Indium und Zink kann man aber wegen des kleinen Verteilungskoeffizienten und der geringeren Komplexstabilität eine Stöchiometrie der extrahierten Verbindung nicht mehr erkennen. Für diese hier behandelte Problemstellung ist das unbedeutend. Diese beobachtete Reihenfolge der Extrahierbarkeit der Jodide ist ein relatives Maß für die Löslichkeit bzw. Komplexstabilität in der organischen Phase und läßt

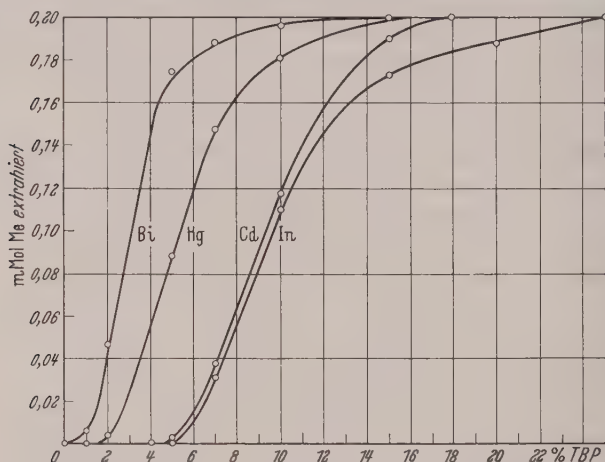


Abb. 3. Extraktion von Bi^{3+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} und In^{3+} bei konstantem Jodidgehalt der wäßrigen Phase und steigendem Tributylphosphat in Octan

sich formal mit der fraktionierten Fällung der Sulfide oder Jodide der beobachteten Elemente aus wäßriger Lösung vergleichen. Weiterhin spielen auch für die Reihenfolge der Extraktion die Konzentrationsbedingungen in der wäßrigen Phase eine Rolle. Dies zeigen die nachfolgenden Versuche, bei denen bei konstantem Jodidüberschuß in der wäßrigen Phase die Extraktionsfolge in Abhängigkeit von der Extraktionsmittelkonzentration untersucht wurde.

Zu jeweils 10 ml der schwach salpetersauren Lösung mit 0,2 mMol an Hg^{2+} , Bi^{3+} , Cd^{2+} , In^{3+} und Zn^{2+} wurden 5 ml 1 m Kaliumjodidlösung gegeben, die Lösungen wurden mit je 20 ml eines Gemisches aus Isooctan mit steigendem Tributylphosphatgehalt extrahiert und die wäßrigen Phasen wie oben beschrieben röntgenfluoreszenzspektroskopisch analysiert.

Die aus den Impulszahlen errechneten Konzentrationen der organischen Phase sind in der Abb. 3 wiedergegeben. Auch hier tritt eine mehr oder minder ausgeprägte fraktionierte Extraktion ein. Besonders zu bemerken ist aber die Extraktion des Wismuts vor Quecksilber. Hierfür sind, wie früher schon von R. Bock¹ bei der Extraktion von Rhodaniden beschrieben ist, die Komplexgleichgewichte in der wäßrigen Phase ver-

antwortlich. Bei dem hier verwendeten Jodidüberschuß liegt das Wismut als gut extrahierbares Tetrajodobismutat vor; höhere Jodokomplexe des Wismuts sind bei dieser Jodidkonzentration noch wenig vorhanden. Beim Quecksilber dagegen ist das Gleichgewicht schon weitgehend zu dem nicht extrahierbaren 2fach geladenen Tetrajodomercurat verschoben. Das bedeutet, daß mit wachsendem Jodidgehalt in der wäßrigen Phase die Quecksilberextraktion schneller abnehmen muß als die des Wismuts.

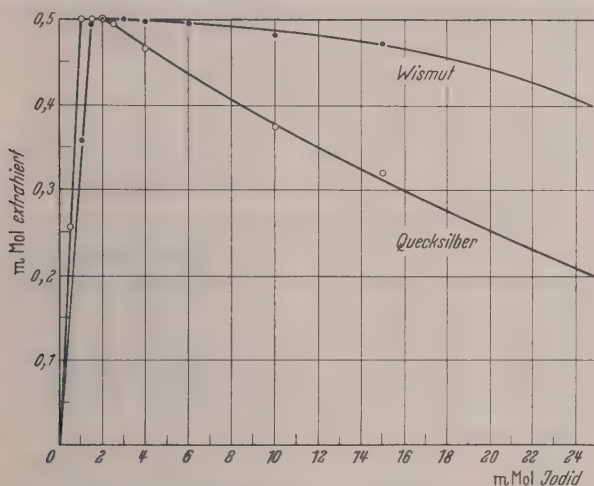


Abb. 4. Abhängigkeit der Verteilungskoeffizienten von Quecksilber und Wismut von der Jodidkonzentration der wäßrigen Phase. Vorgelegt: je 0,5 m Mol Hg^{2+} und Bi^{3+} , Extraktionsmittel 15% Tributylphosphat in Octan. (Die wäßrigen Phasen enthielten in diesem Falle nur Quecksilber bzw. Wismut)

Abb. 4 bestätigt diese Annahme. In Abhängigkeit vom Jodidgehalt wird einmal das Quecksilber oder das Wismut in größerem Maße extrahiert.

Ähnlich wie bei der fraktionierten Extraktion von Kationen unter Verwendung einer Anionenkomponente lassen sich auch mit einem Kation Anionen nacheinander extrahieren. Als Kation wählten wir Quecksilber(II). Mit Quecksilber gehen alle Halogenidionen bei der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln praktisch quantitativ in die organische Phase*. Wie schon früher mitgeteilt wurde³, werden vorgelegte Halogenidionen bei Zugabe von Quecksilber(II)-nitrat zuerst als HgX_3^- extrahiert, das bei überschüssigem Quecksilber, d. h. bei Überschreiten des Molverhältnisses 1:3 sich quantitativ zu HgX_2 umsetzt. Umgekehrt wandelt sich in der organischen Phase HgX_2 bei weiterer Zugabe von Halogenidionen bei der Extraktion völlig in HgX_3^- um. In

* Anmerkung nach der Korrektur. Das gilt für Jodid-, Bromid- und Rhodanidionen aus saurer Lösung. Chloridionen werden nicht quantitativ extrahiert, wie die sehr schwach ausgeprägten Titrationskurven der Abb. 5 und 6 auch zeigen.

der Abb. 5 sind die einzelnen konduktometrischen Extraktionstitrationen für Jodid, Rhodanid, Bromid und Chlorid bei Vorgabe von Queck-

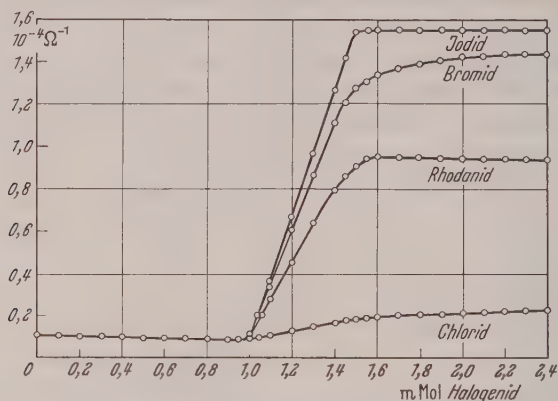


Abb. 5. Konduktometrische Extraktionstitration von Quecksilber(II)-halogeniden in Tributylphosphat. Vorgegeben: je 0,5 m Mol Hg^{++}

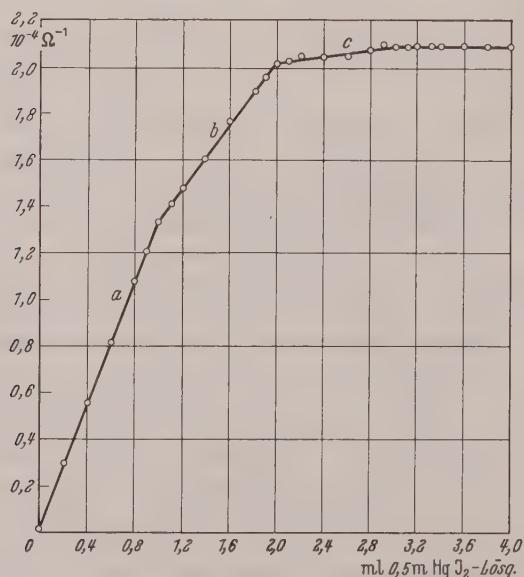
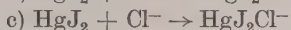
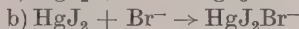


Abb. 6. Konduktometrische Extraktionstitration von J^- , Br^- und Cl^- mit HgJ_2 in Tributylphosphat. (Erklärung siehe Text)

silber(II)-nitrat aufgetragen. Die Titrationskurven unterscheiden sich nur in der Höhe der elektrischen Leitfähigkeiten der extrahierten Trihalogenomercurate. Diese Unterschiede ermöglichen aber die

Anwendung der konduktometrischen Extraktionstitration für die Beobachtung der Extraktionsfolge. Als Titrierlösung benutzten wir eine 0,5 m Lösung von Quecksilber(II)-jodid in Tributylphosphat. Die wäßrige Phase enthielt in 20 ml je 5 mMol Jodid, Bromid und Chlorid; sie war mit 20 ml Tributylphosphat als Extraktionsmittel überschichtet. Die konduktometrische Indizierung des Extraktionsverhaltens zeigt die Abb.6. Man erkennt eindeutig die Anstiegsänderungen der Leitfähigkeiten nach Erreichen der Äquivalenzpunkte für die Reaktionen:



Das bedeutet, daß streng nacheinander Jodid, Bromid und Chlorid in die organische Phase gehen.

Zusammenfassung

Bei der sukzessiven Zugabe von Jodid zu einer schwach salpetersauren Lösung von Hg^{2+} , Bi^{3+} , Cd^{2+} , In^{3+} und Zn^{2+} werden diese Elemente mit Tributylphosphat oder Cyclohexanon in der angegebenen Reihenfolge extrahiert. Es ist demnach möglich, aus einer Lösung mit mehreren Kationen einzelne Elemente fraktioniert zu extrahieren. Auch die Anionen Jodid, Bromid und Chlorid können mit einer Lösung von Quecksilber(II)-jodid in Tributylphosphat fraktioniert ausgeschüttelt werden. Die konduktometrische Indizierung der extrahierten Trihalogenomercurate ergibt die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung von Jodid, Bromid und Chlorid nebeneinander. Die Analyse der Phasen in den einzelnen Systemen wurde bei der Kationenextraktion röntgenfluoreszenzspektroskopisch, bei der Anionenextraktion konduktometrisch durchgeführt.

Wir danken Frl. S. ALTFELD für experimentelle Mitarbeit.

Literatur

¹ BOCK, R.: diese Z. **133**, 110 (1951). — ² SPECKER, H., M. CREMER u. E. JACKWERTH: Angew. Chemie **71**, 492 (1959); vgl. diese Z. **174**, 129 (1960). — ³ SPECKER, H., u. E. JACKWERTH: diese Z. **167**, 416 (1959). — ⁴ SPECKER, H., E. JACKWERTH u. G. HÖVERMANN: diese Z. **177**, 10 (1960).

Prof. Dr. H. SPECKER, Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie, Dortmund-Aplerbeck, Marsbruchstr. 186

Institut für allgemeine Chemie der Universität zu Poznań (Polen)

Quantitative Bestimmung heterocyclischer Verbindungen mittels Ionenaustauscherpapier

Von

A. LEWANDOWSKI und H. WIERZBICKA

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. Juli 1960)

Ionenaustauscher enthaltendes Papier (Ionenaustauscherpapier) eignet sich nicht nur zu Trennungen und zur quantitativen Analyse anorganischer Ionen^{1-5,8,11-13}, sondern leistet auch in quantitativen Bestimmungen verschiedener organischer Verbindungen gute Dienste. Zu den organischen Verbindungen, die in dieser Weise quantitativ bestimmt werden können, gehören auch heterocyclische Basen. Als Vertreter dieser Klasse von Verbindungen sind Alkaloide schon geprüft worden^{7,9,14}. Ionenaustauscherpapier kann jedoch auch zu quantitativen Bestimmungen verschiedener anderer heterocyclischer Verbindungen herangezogen werden, worüber im folgenden berichtet wird.

Reagentien und Hilfsmittel

1. *Kationenaustauscherpapier*. Verwendet wurde Austauscherpapier, welches ein Sulfophenol-Formaldehydharz in H-Form enthielt. Sowohl der Ionenaustauscher als auch das Austauscherpapier wurden in unserem Institut hergestellt. Das Papier wurde in Streifen von 10 mm Breite verwendet.

2. *Analysierte Substanzen*. Es wurden chemisch reine Substanzen verwendet. Auch Tabletten des Herzmittels Cardamid (Diäthylamid der Nicotinsäure) wurden analysiert. Die flüssigen Reagentien wurden redestilliert. Es wurden allgemein 0,04% ige wäßrige Lösungen (pH ungefähr 6) verwendet. Im Falle vom Diäthylamid der Nicotinsäure und vom Hydrazid der Isonicotinsäure wurden 0,05 bzw. 0,75% ige Lösungen hergestellt.

3. *Dragendorffs Reagens*¹⁰ und *Kongorot* zur Sichtbarmachung der Zonen. Die Kongorotlösung wurde mittels Ammoniak etwas rötlich getönt.

4. *Gestell aus Plexiglas* zum Aufhängen des Austauscherpapiers.

5. *Klammern* zum Festhalten des Austauscherpapiers. Zweckmäßig werden dazu zwei an den Enden mit Gummiringen vereinigte Glasstäbe verwendet. Diese Stäbe mitsamt den eingeklemmten Papierstreifen werden oben auf das Plexiglasgestell gelegt.

6. *Eine Tüpfelplatte* mit gleichgroßen Vertiefungen.

Ausführung der Bestimmungen

Die Bestimmungen werden in hergebrachter Weise durchgeführt. Es werden also entsprechende Volumina der Versuchslösungen auf die Tüpfelplatte gebracht und mit dest. Wasser zu 0,8 ml aufgefüllt. Nun werden vorbereitete und auf einem

Gestell hängende Streifen des Kationenaustauscherpapiers mit dem unteren Ende in die Lösungen getaucht. Die oberen, zwischen den Glasstäben herausragenden, werden mit einer Lage Lignin bedeckt. Bei sehr genauen Bestimmungen werden die unteren Enden der Streifen vorher mit einem kurzen, schmalen (3×20 mm) Docht aus gewöhnlichem, reinen Filtrierpapier versehen.

Die Lösungen werden durch die Streifen aufgesaugt, wobei die Ionen der heterocyclischen Base mit dem Austauscher reagieren und entsprechende Zonen bilden. Die Zonen werden mit modifiziertem Dragendorff-Reagens¹⁰ oder Kongorot sichtbar gemacht (Abb. 1) und planimetrisch gemessen. Die Flächen der Zonen sind den eingesogenen

Mengen der Basen proportional. Gewöhnlich sind die Zonen wachsender Mengen Substanz um einen — für jede Versuchsreihe charakteristischen — konstanten Betrag vergrößert. Unter Bezugnahme auf Standardzonen, die gleich zeitig aus Lösungen von bekannten Konzentrationen erhalten werden, wird die Menge der zu bestimmenden Substanz ermittelt (Abb. 2).

Ergebnisse

Die durchgeführten Versuche beweisen, daß einfache heterocyclische Basen quantitativ ebenso gut bestimmt werden können wie Alkaloide. In allen Fällen erscheinen auf dem Austauscherpapierscharfbegrenzte Zonen, deren Flächen ohne Mühe gemessen werden können. Einige Beispiele der Ergebnisse sind in der Tabelle angeführt. Aus den dort angegebenen Zahlen ist eine lineare Abhängigkeit der Zonenflächen von den Substanzmengen zu erkennen. Es sei betont,

daß die lineare Abhängigkeit gut reproduzierbar ist. Die zahlenmäßigen Werte der Zonenflächen sind — unter sonst gleichen Umständen — von dem Gehalt an Kationenaustauscher im Austauscherpapier abhängig. Für die oben erwähnten Versuche wurde ungefähr 10%iges Austauscherpapier verwendet. Zu den Angaben in der Tabelle sei bemerkt, daß jede Base auf Papier mit etwas anderem Austauschergehalt bestimmt wurde, somit sind die absoluten Werte der Zonenflächen verschiedener Basen nicht vergleichbar.

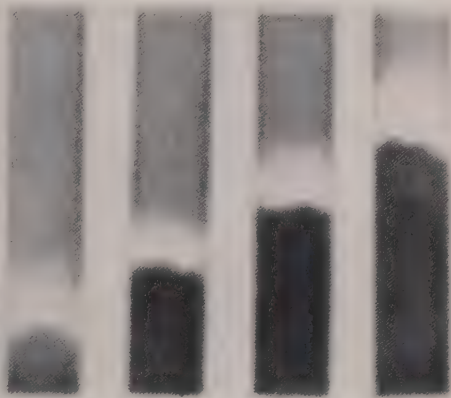


Abb. 1. Zonen wachsender Mengen Chinolin

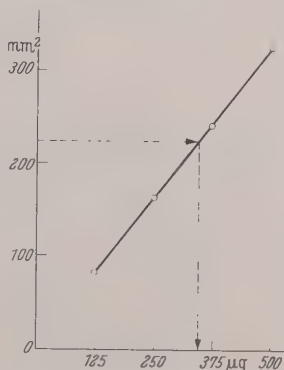


Abb. 2. Graphische Ermittlung unbekannter Substanzmengen (N-Diäthylamid der Nicotinsäure)

Falls nur eine Substanz in der zu bestimmenden Lösung vorliegt, braucht das Analysenergebnis nicht weiter kommentiert zu werden. Nicht so eindeutig und klar sind die Ergebnisse, wenn Gemische verwandter Ionen bestimmt werden. Unter gewöhnlichen Versuchsbedingungen werden diese summarisch in einer gemeinsamen Zone bestimmt.

Tabelle. *Abhängigkeit der Zonenflächen von den Substanzmengen*

Nr.	Verbindung	Fläche in Quadratmillimeter				1 fache Substanzmenge (Mikrogramme)
		1 ×	2 ×	3 ×	4 ×	
1	Pyridin	90	142	202	260	98
2	α-Picolin	81	114	146	188	94
3	γ-Picolin	101	164	232	301	96
4	2,4-Lutidin	83	134	180	230	95
5	α-Collidin	65	114	163	214	92
6	Piperidin	86	149	213	268	87
7	Chinolin	89	169	247	326	101
8	8-Hydroxychinolin	75	136	188	242	100
9	N-Diäthylamid der Nicotinsäure	81	162	240	324	125
10	Hydrazid der Isonicotinsäure	80	147	227	299	250
11	Pyridin (neben Collidin)	30	55	79	103	33
12	Collidin (neben Pyridin)	124	155	185	217	31

Wenn die Bestimmung einzelner Komponenten nötig wird, ist eine — von Fall zu Fall andere — Änderung der Versuchsbedingungen vorzunehmen. Von großem Einfluß auf die Trennung der Komponenten ist allgemein eine Änderung des pH-Wertes oder eine Erhöhung der Konzentration von absichtlich beigemengten anorganischen Salzen. Beispielsweise sei hier auf die in der Tafel unter Nr. 11 und 12 angeführten Trennungen und zugleich quantitativen Bestimmungen von Pyridin und Collidin hingewiesen. Diese Trennungen wurden mit einem sechsfachen Überschuß an Salzsäure (in bezug auf Pyridin) erzielt.

Die Mengen der für die Versuche verwendeten Basen sind aus der letzten Kolonne der Tabelle zu ermitteln. Es ist dort die kleinste Menge (in Mikrogrammen ausgedrückt) der jeweiligen Base angegeben. Diese Zahlen sind nur zu Orientierungszwecken angeführt, denn es können auch vielfach kleinere oder vielfach größere Mengen in der beschriebenen Weise bestimmt werden. Es ist leicht zu ersehen, daß Austauscherpapier mit niedrigem Gehalt an Ionenaustauscher auch mit wenig Base genügend große Zonen liefert. Die Färbung der Zonen ist in diesem Falle schwächer. Größerer Gehalt an Ionenaustauscher wirkt naturgemäß in gegengesetztem Sinne. Entsprechend schmälere oder breitere (als 1 cm) Streifen geben eine gewisse Möglichkeit, auch mit nur einer Sorte Austauscherpapier verschiedene Mengen Substanz genügend genau zu bestimmen.

Die Zonenflächen sind mit einer Genauigkeit bis 1 mm^2 ablesbar. Der gesamte Fehler der Bestimmungen überschreitet nicht $\pm 3\%$ der theoretischen Menge. Gute Resultate werden erhalten, wenn die Chromatogramme der zu bestimmenden Substanz wie auch der Standardsubstanz möglichst gleichzeitig und unter gleichen Versuchsbedingungen hergestellt werden. Besondere Rücksicht ist auf die Ionenstärke und das Volumen der Lösungen zu nehmen.

Bei der Ionenstärke handelt es sich an erster Stelle um Anwesenheit anorganischer Ionen. Gegen solche Beimengungen ist Pyridin sehr empfindlich. Schon zweifacher Äquivalentüberschuß an Salzen vermag die Ausbildung einer Pyridinzone stark zu hindern. Säuren (0,8 ml auf $500 \mu\text{g}$ Pyridin) beeinflussen die Zonenfläche weniger, obwohl sich schon bei 0,001 n Salzsäure eine leichte Vergrößerung der Fläche bemerkbar macht. Je höher die Konzentration der Säure um so größer wird die Zone, um ungefähr bei 0,3 n Säure aus dem Streifen ausgespült zu werden. Im alkalischen Milieu ($\text{pH} > 8$) bildet sich keine Zone. Eine angemessene Vergrößerung der Zonen, welche durch Anwesenheit von anderen Elektrolyten verursacht wird, ist den Analysenergebnissen nicht schädlich. Es muß in diesem Falle nur dafür gesorgt werden, daß die Standardlösungen dieselben Beimengungen besitzen. Sehr kleine Beimengungen von fremden Ionen, wie sie z. B. in Tabletten zu finden sind, stören nicht. Als Füllmaterial für Tabletten wird oft Talkum oder Stärke verwendet, welche ohne Einfluß auf die Ergebnisse sind.

Zusammenfassung

Es wird darauf hingewiesen, daß einfache heterocyclische Verbindungen ähnlich wie Alkaloide mittels Ionenaustauscherpapier quantitativ bestimmt werden können. Kleine Mengen (im Bereich von Mikrogrammen) dieser Verbindungen werden als Lösungen in die Streifen des Austauscherpapiers eingesogen. Die entstehenden Zonen werden mit Dragendorffs Reagens sichtbar gemacht und planimetriert. Der Vergleich mit Standardzonen ermöglicht eine quantitative Auswertung des Zonenflächen.

Literatur

- ¹ BORKOWSKI, B., u. A. LEWANDOWSKI: *Przemysł Chem.* **13**, 282 (1957). — ² HALE, D. K.: *Chem. and Ind.* **1955**, 1147; vgl. diese Z. **150**, 275 (1956). — ³ LEWANDOWSKI, A., u. A. CHWIOLKA: *Wiss. Hefte d. Mickiewicz-Univ.* **3**, 15 (1960). — ⁴ LEWANDOWSKI, A., u. J. IGNASIAK: *Roczn. Chem.* **30**, 557 (1956). — ⁵ LEWANDOWSKI, A., T. PRZEKWAŚINSKA u. H. ŚLAK: *Wiss. Hefte d. Mickiewicz-Univ., Mat.-Fiz.-Chem.* **3**, 21 (1960). — ⁶ LEWANDOWSKI, A., u. H. WITKOWSKI: *Poln. Pat.* 38801, Januar 1955. — ⁷ LEWANDOWSKI, A., u. H. WITKOWSKI: *Chem. analit. (Warszawa)* **4**, 321 (1959); vgl. diese Z. **177**, 154 (1960). — ⁸ LEWANDOWSKI, A., H. WITKOWSKI u. J. IGNASIAK: Erste polnische chromatographische Tagung. Kraków, Mai 1954. — ⁹ MALEJKA, D., u. H. WITKOWSKI: *Bull. Soc. Amis Sci. Lettres Poznań, Sér. C.* **9**, 27 (1959). — ¹⁰ MUNIER, B., u. M. MACHEBOEUR: *Bull.*

Soc. Chim. biol. **32**, 192 (1950); vgl. diese Z. **135**, 356 (1952). — ¹¹ WITKOWSKI, H.: Roczn. Chem. **30**, 540 (1956). — ¹² WITKOWSKI, H.: Chem. analit. (Warszawa) **3**, 1049 (1958); vgl. diese Z. **171**, 457 (1959/60). — ¹³ WITKOWSKI, H.: Chem. analit. (Warszawa) Festschrift, 376 (1959). — ¹⁴ WITKOWSKI, H.: Chem. analit. (Warszawa) **4**, 317 (1959); vgl. diese Z. **177**, 153 (1960).

Prof. Dr. A. LEWANDOWSKI, Poznań (Polen), ul. Grunwaldzka 6

Aus dem Analytischen Laboratorium der Farbenfabriken Bayer A.G., Werk Uerdingen

Die Bestimmung von Schwefelsäure neben anorganischen und organischen Säuren durch potentiometrische Titration in Methanol

Von
WOLFGANG STUCK

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 12. Juli 1960)

Die Bestimmung von Schwefelsäure neben anorganischen und organischen Säuren durch eine acidimetrische Titration ist von großem praktischen Interesse. Die vielseitige Verwendung von Schwefelsäure in der anorganischen und organischen Chemie macht oft ihre Bestimmung neben anderen Säuren erforderlich. Es seien als Beispiele nur die Analyse der Nitriersäure (Schwefelsäure/Salpetersäure) und die Untersuchung von Reaktionsmischungen bei Sulfurierungen (Schwefelsäure/Sulfonsäure) genannt. Wegen der großen technischen Bedeutung solcher Reaktionen müssen entsprechend häufig Analysen durchgeführt werden. Es gilt daher, den Analysengang derartiger Untersuchungen möglichst einfach zu gestalten. Die erste praktisch brauchbare Methode zur Bestimmung von Schwefelsäure neben Mineralsäure durch eine potentiometrische Titration rührt von F. E. CRITCHFIELD u. J. B. JOHNSON¹ her, die zeigen, daß bei der potentiometrischen Titration von Schwefelsäure in Acetonitril mit Morpholinlösung 2 scharfe Potentialsprünge auftreten, welche die beiden Wasserstoffionen der Schwefelsäure nacheinander indizieren. Bei der Titration von Mischungen aus Schwefelsäure und anderen einbasischen Säuren indiziert der erste Potentialsprung die Summe der Wasserstoffionen der einbasischen Säure und der Hälfte der Wasserstoffionen der Schwefelsäure, während der 2. Potentialsprung die andere Hälfte der Wasserstoffionen der Schwefelsäure anzeigt. Auf Grund dieser 2 Potentialsprünge lassen sich Zweisäuregemische aus einer Titration genau berechnen.

Das gleiche Problem lösen R. H. CUNDIFF u. P. C. MARKUNAS² durch potentiometrische Titration entsprechender Säuremischungen in Pyridin

mit Tetrabutylammoniumhydroxyd als Titrant. Auch in diesem Falle zeigt der Potentialverlauf 2 Sprünge, welche die Berechnung der Zusammensetzung der Mischung erlauben.

Durch diese beiden Methoden ist das Problem zwar im Prinzip gelöst, aber der praktischen Anwendung stehen hinderlich im Wege der hohe Preis und die spezielle Vorbereitung der Lösungsmittel Pyridin und Acetonitril, die schwierige Bereitung von Tetrabutylammoniumhydroxyd sowie die Notwendigkeit Blindwerte auszuführen und mit Schutzgas zu arbeiten. Nach unseren Erfahrungen bereitet es auch Schwierigkeiten, bei der Verwendung von Tetrabutylammoniumhydroxyd die angegebenen Analysengenauigkeiten zu erreichen. Nachteilig ist ferner der erforderliche Einsatz von sehr verdünnten Normalösungen, die sehr kleine Einwägen oder das Arbeiten mit Auffüllungen notwendig machen.

Wir fanden nun eine Methode, die von all diesen Nachteilen frei ist. Bei der potentiometrischen Titration von in Methanol gelöster Schwefelsäure mit Cyclohexylaminlösung unter Verwendung der üblichen Glas-Indicatorelektrode treten 2 scharf ausgeprägte Potentialsprünge auf, die die beiden Wasserstoffionen der Schwefelsäure anzeigen. Mischungen von Schwefelsäure mit anderen einbasischen Säuren lassen sich wie oben aus der Lage der Potentialsprünge im Titrationsdiagramm berechnen.

Das Lösungsmittel Methanol ist in jedem Laboratorium vorhanden; es ist normalerweise neutral und damit blindwertfrei. Wasserfrei braucht es nicht zu sein, obwohl die Schärfe des ersten Potentialsprunges vom Wassergehalt abhängig ist. Ein Gehalt von 5% Wasser stört die Analyse kaum. Mit zunehmendem Wassergehalt verschlechtert sich die Differenzierung der beiden Potentialsprünge. Bei mehr als 25% Wasser ist eine Differenzierung nicht mehr möglich.

Der Titrant besteht aus einer Lösung von Cyclohexylamin in Methanol. Die Base ist in solcher Reinheit handelsüblich, daß keine Reinigungsoperation notwendig ist. Wegen der guten Löslichkeit der Base in Methanol lassen sich alle üblichen Normalösungen herstellen und gegen

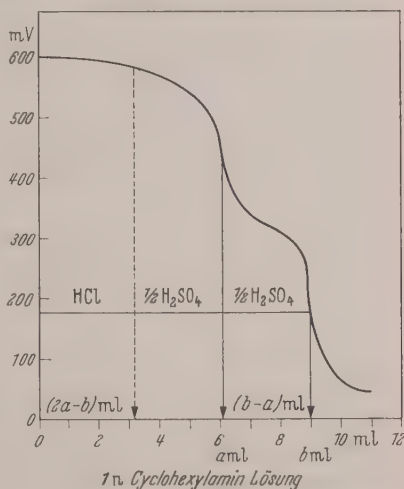


Abb. 1. Potentialverlauf bei der potentiometrischen Titration einer Schwefelsäure/Salzsäure-Mischung in Methanol mit 1 n methanolischer Cyclohexylaminlösung. $[(2a-b) \cdot 36,47 \cdot 100]/E = \% \text{ HCl}$; $[(b-a) \cdot 98,08 \cdot 100]/E = \% \text{ H}_2\text{SO}_4$

Benzoesäure einstellen. In einer Bürette mit Vorratsgefäß haben diese Lösungen gute Titerbeständigkeit. Die Titration kann ohne Schutzgas im Becherglas durchgeführt werden, und es besteht im Gegensatz zur Verwendung von Pyridin keine Geruchsbelästigung. Die Potential-einstellung erfolgt sehr schnell und die Potentialkurve zeigt den bekannten Verlauf (Abb. 1). Die Wendepunkte sind so scharf ausgeprägt.

Tabelle 1. Zusammenstellung der durch potentiometrische Titration mit Cyclohexylamin in Methanol erhaltenen Analysenergebnisse von Säuremischungen

Einwaage mg	mg gef.	Prozent der eingesetzten Menge	Einwaage mg	mg gef.	Prozent der eingesetzten Menge
Schwefelsäure			+	Phosphorsäure	
113,3	113,5	100,2	351,2	348,3	99,2
212,5	211,8	99,7	253,3	253,1	99,9
278,9	278,7	99,9	180,7	178,2	98,6
Schwefelsäure			+	p-Toluolsulfosäure	
184,0	185,4	100,8	359,0	359,4	100,2
278,2	278,7	100,2	296,3	293,5	99,1
385,2	385,0	100,0	93,4	94,3	101,0
Schwefelsäure			+	Salzsäure	
122,0	120,6	99,3	182,7	183,1	100,3
180,3	180,4	100,0	120,6	120,6	100,0
241,8	241,2	99,8	62,1	62,2	100,2
Schwefelsäure			+	Benzolsulfonsäure	
194,6	192,5	98,9	450,6	452,1	100,3
309,4	308,0	99,5	233,1	231,8	99,4
403,4	399,2	99,0	116,7	117,5	100,7
Schwefelsäure			+	Perchlorsäure	
223,6	221,9	99,3	478,3	479,5	100,3
313,8	311,1	99,2	368,4	369,5	100,3
405,0	405,3	100,1	132,7	131,8	99,3
Schwefelsäure			+	Salpetersäure	
347,7	347,2	99,8	211,7	212,8	100,5
248,4	249,4	100,4	352,8	352,6	99,9
149,0	147,6	99,1	493,9	496,0	100,4

daß man bei Verwendung von 1 n Lösung das Titrationsvolumen auf $\pm 0,04$ ml genau ermitteln kann. Hinsichtlich der Genauigkeit und der leichten Durchführbarkeit unterscheidet sich diese Arbeitsweise daher in keiner Weise von der üblichen Acidimetrie in wäßriger Lösung mit potentiometrischer Endpunktsanzeige.

In Tab. 1 sind die mit dieser Titrationsmethode erzielten Ergebnisse bei der Analyse von Säuremischungen zusammengestellt.

Wir haben bei der Ausarbeitung dieser Methode noch folgende Lösungsmittel versuchsweise eingesetzt:

Äthanol	Amylalkohol	Dimethylformamid
Isopropanol	Acetonitril	Tetrahydrofuran
Butanol	Dioxan	Aceton.

Als Titranten verwendeten wir Lösungen der nachstehenden Basen:

Triäthylamin	Benzylamin
Dibutylamin	Piperidin
Äthanolamin	Morpholin.

Es zeigte sich, daß praktisch alle Titrationssysteme zur Differenzierung der beiden Wasserstoffionen der Schwefelsäure brauchbar sind. Wegen der guten Lösungseigenschaften für die sich bildenden Salze ist das Methanol jedoch allen anderen Lösungsmitteln überlegen. Die Verwendung einer bestimmten Base ist nicht entscheidend. Da aber das Titrationsdiagramm Schwefelsäure/Cyclohexylamin den steilsten Potentialverlauf aufweist, verwendeten wir fernerhin nur noch diese Base. Dieses Ergebnis war insofern nicht zu erwarten, als F. E. CRITCHFIELD u. J. B. JOHNSON¹ behaupteten, daß das System Methanol/Morpholin nur einen Potentialsprung aufweise und daher unbrauchbar sei. Diese Angabe steht im Gegensatz zu unseren Ergebnissen.

Die beschriebene Methode läßt sich auch zur Analyse von sulfathaltigen Salzmischungen heranziehen, indem man die Salze mit Hilfe eines Kationenaustauschers in die entsprechenden Säuren überführt. Wenn man die Salzmischung in wenig Wasser gelöst auf die Austauschersäule aufgibt und mit Methanol eluiert, läßt sich im Eluat die Schwefelsäure einwandfrei neben den anderen Säuren titrieren. Diese Arbeitsweise hat besonderen Wert bei der Analyse Sulfat-Sulfonatmischungen, die in manchen Fällen mit den bisher üblichen Methoden überhaupt nicht zu analysieren sind.

Tabelle 2. *Analysenergebnisse von Salzmischungen*

Einwaage mg	mg gef.	Prozent der eingesetzten Menge	Einwaage mg	mg gef.	Prozent der eingesetzten Menge
Natriumsulfat			+	Natriumbenzolsulfonat	
51,8	51,8	100,0	208,8	211,0	101,0
100,1	99,8	99,7	135,2	137,6	101,8
75,1	75,3	100,2	99,2	99,9	100,7

Tab. 2 zeigt die Ergebnisse der Analysen von Mischungen aus Natriumsulfat und Natriumbenzolsulfonat.

Die Tatsache, daß die Neutralisierung von Schwefelsäure in Methanol mit einem der von uns verwendeten aliphatischen Amine in 2 Stufen

erfolgt, hat einige interessante Folgerungen. Bei der Titration von einem Äquivalent Schwefelsäure wird die Bildung des Hydrogensulfates ($(\text{RNH}_3)(\text{HSO}_4)$) nach Zugabe eines halben Äquivalentes Base durch den ersten Potentialsprung indiziert. Der zweite Potentialsprung nach

Tabelle 3. *Titration verschiedener Sulfate mit Perchlorsäure*

Einwaage mg	Verbrauch ml 1 n HClO_4	Gefunden Cyclohexyl- ammonium- sulfat %
Cyclohexylammoniumsulfat gelöst in 30 ml Methanol		
104,21	0,3515	99,9
117,33	0,3945	99,5
109,72	0,3698	99,7
Einwaage mg	Verbrauch ml 1 n HClO_4	Gefunden Ammonium- sulfat %
Ammoniumsulfat gelöst in 5 ml Wasser + 30 ml Methanol		
41,83	0,3105	98,1
46,34	0,3434	97,9
Einwaage mg	Verbrauch ml 1 n HClO_4	Gefunden Lithiumsulfat %
Lithiumsulfat gelöst in 5 ml Wasser + 30 ml Methanol		
29,74	0,2659	98,3
42,78	0,3833	98,5

Zugabe eines weiteren halben Äquivalentes Schwefelsäure zeigt die Bildung der Verbindung $(\text{RNH}_3)_2\text{SO}_4$ an. Die Indizierung der Bildung des (HSO_4) -Ions hat nun zur Folge, daß bei der Titration einer Base mit Schwefelsäure in Methanol von einem Äquivalent Base bis zum zweiten Potentialsprung 2 Äquivalente Schwefelsäure verbraucht werden, denn der erste Potentialsprung zeigt nach Zugabe eines Äquivalentes die Bildung des neutralen Salzes $(\text{RNH}_3)_2\text{SO}_4$, und der zweite Sprung nach Zugabe eines weiteren Äquivalentes Säure die Bildung des sauren Salzes $(\text{RNH}_3)(\text{HSO}_4)$ an. Es tritt hier der für den Analytiker bemerkenswerte Umstand ein, daß es bei der potentiometrischen Titration von Schwefelsäure

mit Amin in Methanol nicht gleichgültig ist, ob man die Schwefelsäure mit Amin oder das Amin mit Schwefelsäure titriert. Im zweiten Falle ist der Verbrauch doppelt so groß wie im ersten.

Die Möglichkeit, die Bildung des (HSO_4) -Ions potentiometrisch indizieren zu können, läßt sich analytisch zur Titration von Sulfaten verwenden. So können neutrale Salze der Schwefelsäure mit Säuren zum Hydrogensulfat potentiometrisch titriert werden. Diese Titration muß nicht mit Schwefelsäure durchgeführt werden, da es für die Bildung des (HSO_4) -Ions aus dem $(\text{SO}_4)^{2-}$ -Ion nur auf die Wasserstoffionenkonzentration ankommt, die genügend hoch sein muß. Die Verwendung von 1 n methanolischer Perchlorsäure hat sich gut bewährt. Voraussetzung für die Titration bildet die Löslichkeit des Salzes in Methanol. Da die Sulfate der meisten organischen Basen löslich sind, lassen sie sich auf diese Weise titrieren. Wir konnten aber auch Lithiumsulfat, Ammonium-

sulfat und kleine Mengen Natriumsulfat in Methanol bestimmen. Tab.3 zeigt einige Ergebnisse solcher Salztitrationen.

Die angeführten Beispiele zeigen, daß die Potentiometrie in Methanol zur Analyse von Säuremischungen und Sulfaten gut geeignet ist. Da das Verfahren leicht zu handhaben ist, dürfte ihm erhebliche praktische Bedeutung zukommen.

Praktischer Teil

Herstellung und Einstellung von 1 n-Cyclohexylaminlösung. 100 g handelsübliches Cyclohexylamin ($M = 99,17$) wägt man in einem 1 l-Meßkolben ein und füllt mit Methanol bis zur Marke auf.

Zur Einstellung löst man genau 1–1,2 g (E) Benzoesäure in einem 150 ml-Becherglas in etwa 10 ml Methanol. Dann setzt man ungefähr 60 ml Wasser hinzu und titriert potentiometrisch unter Rühren bei Verwendung einer Glas-Kalomel-Elektrodenkombination mit der einzustellenden Lösung aus einer 10 ml-Bürette. Im Umschlagsbereich gibt man jeweils 0,04 ml hinzu (Verbrauch = a ml). Faktor = $1000 E/122,1 a$.

Durchführung der Bestimmung. Eine etwa 8 Milliäquivalente Säure enthaltende Mischung (E Milligramm) wird in einem 100 ml-Becherglas in ungefähr 50 ml Methanol gelöst und unter Rühren bei Verwendung einer Glas/Kalomel-Elektrodenkombination potentiometrisch mit der 1 n Cyclohexylaminlösung titriert. Im Umschlagsbereich wird mit Zugaben von 0,04 ml gearbeitet (Verbrauch bis zum ersten Potentialsprung a Milliliter, bis zum zweiten Potentialsprung b Milliliter). Bei Mischungen mit unbekannter Zusammensetzung ist es zweckmäßig, zunächst die ganze Potentialkurve manuell oder unter Zuhilfenahme eines schreibenden Titriergerätes aufzunehmen.

Die Berechnung der Ergebnisse bei Mischung von Schwefelsäure mit einbasischer Mineralsäure oder organischer Sulfonsäure erfolgt nach folgender Formel:

$$[(b - a) \cdot 98,08 \cdot 100]/E = \% \text{ H}_2\text{SO}_4,$$

$$[(2a - b) \cdot A \cdot 100]/E = \% \text{ 2. Säure mit Mol-Gew. } A.$$

(A = Mol-Gew. der einbasischen Säure.)

Bei der Titration und Berechnung von Mischungen ein- und mehrbasischer anorganischer und organischer Säuren muß berücksichtigt werden, daß in manchen Fällen der erste Potentialsprung der Schwefelsäure allein zugeordnet werden muß, während der zweite Potentialsprung die andere Komponente mitanzeigt. Gegebenenfalls können auch 3 Potentialsprünge auftreten. In solchen Fällen muß durch Versuche mit den reinen Komponenten geprüft werden, welche Wendepunkte der Potentialverlaufkurve den einzelnen Komponenten zuzuordnen sind. Nach unseren Erfahrungen indiziert bei diesem Titrationsverfahren der erste Potentialsprung

Schwefelsäure, 1. Stufe; Salzsäure; Salpetersäure; Perchlorsäure; organische Sulfonsäuren,

der zweite Potentialsprung

Schwefelsäure, 2. Stufe; Phosphorsäure, 1. Stufe (2. und 3. Stufe sind nicht titrierbar); Oxalsäure, 1. Stufe; Phthalsäure, 1. Stufe (2. Stufe nicht titrierbar); Maleinsäure, 1. Stufe (2. Stufe nicht titrierbar),

der dritte Potentialsprung

Oxalsäure, 2. Stufe; einbasische organische Carbonsäuren.

Arbeitsvorschrift zur Analyse von Salzmischungen. Eine mit Wofatit KS gefüllte Ionenaustauschersäule von 30 cm Länge und 2 cm $\varnothing$ wird mit 100 ml 10%iger Salzsäure regeneriert und mit 200 ml Wasser und anschließend mit 300 ml Methanol neutral gewaschen. Die Salzprobe löst man in 3 ml Wasser, gibt diese Lösung auf die Säule und wäscht mit 3 ml Wasser ein. Danach eluiert man mit 150 ml Methanol und titriert das Eluat potentiometrisch wie oben beschrieben.

Zusammenfassung

Es wurde gefunden, daß sich Schwefelsäure sehr einfach neben anderen anorganischen und organischen Säuren in Methanol mit Cyclohexylamin als Titrant potentiometrisch titrieren läßt.

Sulfathaltige Salzmischungen können in methanolisch-wäßriger Lösung mit Hilfe eines Kationenaustauschers in die entsprechenden Säuren übergeführt und anschließend mit Cyclohexylamin potentiometrisch titriert werden.

Sulfate von anorganischen und organischen Basen lassen sich — soweit in Methanol löslich — mit starken Säuren direkt potentiometrisch titrieren.

Literatur

¹ CRITCHFIELD, F. E., and J. B. JOHNSON: *Analyt. Chemistry* **26**, 1803 (1954); vgl. diese Z. **148**, 140 (1955/56). — ² CUNDIFF, R. H., and P. C. MARKUNAS: *Anal. chim. Acta* (Amsterdam) **20**, 506 (1959); vgl. diese Z. **174**, 370 (1960).

Dr. WOLFGANG STUCK, Farbenfabriken Bayer A.G., Wiss. Hauptlaboratorium, Krefeld-Uerdingen

Aus dem Analytischen Institut der Universität Wien

Über die Oxydationsleistung von Mischpräparaten bei der C-H-Analyse

Von

GERALD KAINZ und HEINZ HORWATITSCH

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. Juli 1960)

Wie wir früher³ gezeigt haben, läßt sich die Oxydationsleistung von grobem Kupferoxyd in *Kohlendioxydatmosphäre* außerordentlich steigern, wenn man es vorher mit Silber, Kobalt(II,III)-oxyd oder Chrom(III)-oxyd imprägniert. Bei Ag- und Co_3O_4 -Zusatz wurde die Verbrennungskurve von Kupferoxyd um 230° C, bei Cr_2O_3 -Zusatz um 180° C zu tieferen

Temperaturen hin verschoben. Diese Mischpräparate ermöglichten, bei der N-Bestimmung die Spülgasgeschwindigkeit zu erhöhen und die Temperatur des Langofens zu senken.

Es schien nun von Interesse, die Leistungsfähigkeit dieser Präparate auch in *Sauerstoffatmosphäre* zu erproben, um sie gegebenenfalls bei der C-H-Bestimmung einsetzen zu können. Wir untersuchten folgende Präparate: grobes Kupferoxyd, das mit Cr_2O_3 , Co_3O_4 bzw. Ag imprägniert worden war (vgl.³). Zum Vergleich zogen wir auch Mischpräparate anderer Autoren heran, und zwar Co_3O_4 auf Asbest als Träger (nach VEČERA⁷) sowie zersetztes Silberpermanganat (= Mangandioxyd + Silber) nach KÖRBL⁵.

1. Grobes Kupferoxyd, imprägniert mit Chrom(III)-oxyd

Wir imprägnierten das übliche drahtförmige Kupferoxyd mit Ammoniumdichromat, zersetzten das Dichromat bei 600°C zu Chrom(III)-oxyd und ermittelten die Verbrennungskurve. Abb. 1, Ziffer 1 zeigt, daß dieses Präparat zunächst sehr wirksam ist; die Verbrennungskurve weist jedoch einen Knick auf und erreicht erst bei 730°C den 100%-Wert. Das Präparat geht also von einer anfangs aktiveren Form in eine inaktive Form über.

Um das eigentümliche Verhalten dieses Mischoxyds besser verstehen zu können, ermittelten wir die Verbrennungskurven der *einzelnen Komponenten*. Wir verwendeten hierzu die gleichen Gewichtsmengen, wie sie im Mischpräparat enthalten waren (3.59 g grobes Kupferoxyd bzw. 15 mg Cr_2O_3) und ersetzten jeweils eine

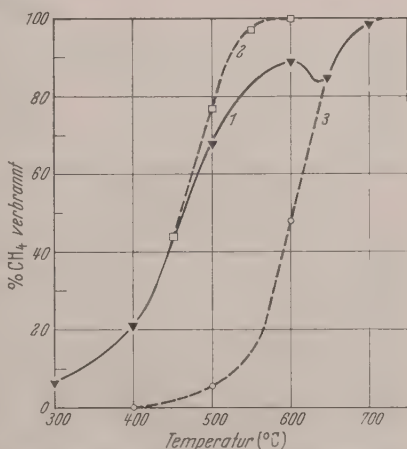


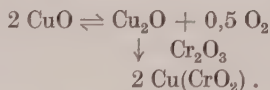
Abb. 1. Verbrennung von Methan: 1 am Mischoxyd $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$; 2 an der Cr_2O_3 -Komponente; 3 an der Kupferoxyd-Komponente (Spülgas Sauerstoff)

Komponente durch Quarzsplitter. Aus Abb. 1, Ziffer 2 und 3 geht hervor, daß die Cr_2O_3 -Komponente — trotz der sehr geringen Menge — wesentlich aktiver ist als die CuO -Komponente (Hauptmenge). Die Verbrennungskurve des Mischpräparates (Ziffer 1) deckt sich zunächst bis 450°C mit der von Cr_2O_3 . Oberhalb 450°C nimmt jedoch die Wirksamkeit des Mischpräparates ab und die Verbrennungskurve geht in die von grobem Kupferoxyd über. Dies zeigt, daß Cr_2O_3 in Sauerstoffatmosphäre nicht imstande ist, die Wirksamkeit von Kupferoxyd zu

erhöhen; im Gegenteil: über 450°C wird seine Wirksamkeit durch Kupferoxyd sogar vermindert.

Dieser Befund unterscheidet sich somit sehr wesentlich von dem Ergebnis, das wir in Kohlendioxydatmosphäre erhalten haben. Dort war die Oxydationsleistung des Mischpräparates wesentlich größer als die der einzelnen Komponenten (vgl.³⁾.

Um das unterschiedliche Verhalten von $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$ erklären zu können, sollen die Reaktionen dieses Systems in Kohlendioxyd- und Sauerstoffatmosphäre näher betrachtet werden. In *Kohlendioxydatmosphäre* ist Chrom(III)-oxyd in reiner Form oxydativ unwirksam. Im Gemisch mit Kupferoxyd begünstigt es jedoch die Dissoziation von Kupfer(II)-oxyd, indem es Kupfer(I)-oxyd durch Chromitbildung abbindet und so das Gleichgewicht zugunsten der Sauerstoffabspaltung verschiebt.



Durch diese Reaktion ist der Sauerstoffpartialdruck des Mischpräparates etwas höher als der von reinem Kupferoxyd. Da nun die Oxydationsleistung eines Systems vom Sauerstoffpartialdruck der beteiligten Komponenten abhängt, so ist das Mischpräparat $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$ in Kohlendioxydatmosphäre oxydativ wirksamer als reines Kupferoxyd.

In *Sauerstoffatmosphäre* hingegen ist reines Chrom(III)-oxyd — zum Unterschied in Kohlendioxyd — außerordentlich wirksam. Diese hohe Wirksamkeit dürfte — in Analogie zu Co_3O_4 (vgl.⁴⁾ — durch Chemisorption von Sauerstoff an Cr_2O_3 zustande kommen, so daß zumindest an der Oberfläche des Oxyds ein Addukt mit hoher Sauerstofftension vorhanden ist. Bei Anwesenheit von Kupferoxyd reagiert nun Chrom(III)-oxyd, wie vorhin erwähnt, auch mit Kupfer(I)-oxyd, das durch Dissoziation aus Kupfer(II)-oxyd entsteht. Das dabei gebildete Kupferchromit ist jedoch oxydativ kaum wirksam. Dies hat zur Folge, daß die überaus wirksame $\text{Cr}_2\text{O}_3 \cdot x\text{O}_2$ -Komponente verschwindet und an seine Stelle das unwirksame Chromit tritt. Wie man aus Abb. 1 schließen kann, setzt die Chromitbildung bei etwa 450°C ein. Bei 600°C ist das vorhandene Chromoxyd bereits aufgebraucht und als wirksame Verbindung ist nur grobes Kupferoxyd vorhanden. Die Verbrennungskurve geht bei dieser Temperatur in die von grobem Kupferoxyd über.

2. Kupferoxyd, imprägniert mit Co_3O_4

Wie Abb. 2, Ziffer 1 zeigt, ist dieses Mischpräparat recht wirksam; es oxydiert Methan bereits bei 440°C quantitativ. Es interessierte uns nun, ob die Oxydationsleistung dieses Mischoxyds höher, gleich oder niedriger ist als die Leistung der Einzelkomponenten. Hierzu ermittelten wir die

Verbrennungskurven von Co_3O_4 (Ziffer 2) sowie von grobem Kupferoxyd (Ziffer 3); die Gewichtsmengen waren dieselben wie beim Mischpräparat (3,59 g Kupferoxyd bzw. 49 mg Co_3O_4).

Man sieht, daß sich die Verbrennungskurve des Mischoxyds innerhalb der Versuchsfehler gut mit der des Co_3O_4 -Anteils deckt. Die Leistung von $\text{CuO-Co}_3\text{O}_4$ in Sauerstoffatmosphäre setzt sich also lediglich aus den Leistungen der Einzelkomponenten zusammen. Eine Leistungssteigerung wird durch das Vermischen dieser beiden Oxyde *nicht* bewirkt. Damit verhält sich $\text{CuO-Co}_3\text{O}_4$ in Sauerstoff analog wie $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$ unter 450°C .

In Kohlendioxyd hingegen ist die Leistung dieses Mischpräparates höher als die der Einzelkomponenten (vgl.³). Für dieses unterschiedliche Verhalten sind unserer Meinung nach wie bei $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$ 2 Faktoren maßgebend: 1. in Sauerstoffatmosphäre chemisorbiert Co_3O_4 Sauerstoff und geht dadurch in ein sauerstoffreicheres Addukt mit hoher Sauerstofftension über (vgl.⁴).

Dieses Addukt ist bestimmend für die Oxydationsleistung des Mischpräparats in Sauerstoff. In Kohlendioxydatmosphäre liegt hingegen Co_3O_4 vor, das oxydativ wesentlich weniger wirksam ist; seine Verbrennungskurve liegt (wie die von grobem Kupferoxyd) bei höheren Temperaturen. Hierdurch tritt ein 2. Faktor in den Vordergrund, der bei tieferen Temperaturen keine Rolle spielt, nämlich die Festkörperreaktion zwischen Kupferoxyd und Kobaltoxyd. Bei dieser Reaktion wird Sauerstoff in Freiheit gesetzt (vgl.³) und die Sauerstofftension des Mischpräparates nimmt im Vergleich zu den Einzelkomponenten zu. Dadurch ist die Oxydationsleistung des Mischpräparats in Kohlendioxyd höher als die der reinen Komponenten.

3. Kupferoxyd, imprägniert mit Silber

Wie wir früher³ beobachtet haben, wird die Oxydationsleistung von grobem Kupferoxyd in Kohlendioxydatmosphäre wesentlich erhöht, wenn man es vorher mit Silbernitrat imprägniert und dieses bei 500°C

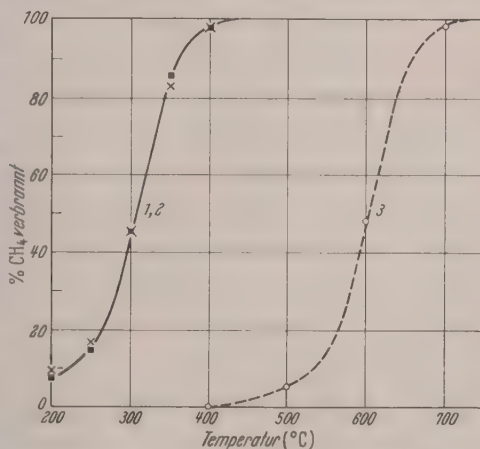


Abb. 2. Verbrennung von Methan: 1 am Mischoxyd $\text{CuO-Co}_3\text{O}_4$, 2 an der Co_3O_4 -Komponente, 3 an der Kupferoxyd-Komponente (Spülgas Sauerstoff)

zersetzt. Es interessierte uns nun, wie sich dieses Präparat in Sauerstoffatmosphäre verhält. Abb.3, Ziffer 1 zeigt, daß dieses Mischpräparat zunächst aktiver ist als grobes Kupferoxyd (Ziffer 2). Oberhalb 450° C nimmt jedoch seine Leistungsfähigkeit ab und die Verbrennungskurve geht in die von grobem Kupferoxyd über.

Da Silber oxydativ nicht wirksam ist, so würde dieser Befund bedeuten, daß Silber — zumindest unter 450° C — imstande ist, die Oxy-

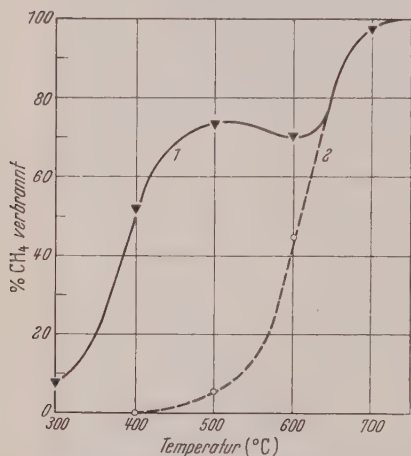


Abb. 3. Verbrennung von Methan: 1 am Mischpräparat CuO-Ag; 2 an grobem Kupferoxyd (Spülgas Sauerstoff)

dationsleistung von grobem Kupferoxyd in Sauerstoffatmosphäre zu erhöhen. Dies ist überraschend, da die bisher untersuchten Mischpräparate in Sauerstoffatmosphäre keine Leistungssteigerung in Vergleich zu den Einzelkomponenten aufwiesen.

Beigenauerer Untersuchung zeigte sich aber, daß diese Leistungssteigerung nicht durch die Einwirkung von Silber auf Kupferoxyd zustande kommt, sondern eine andere Ursache hat. Behandelt man nämlich käufliches grobes Kupferoxyd mit Silbernitrat, so überzieht es sich mit einer Schicht von feinem Silber. Silbernitrat wird also vom käuflichen Kupferoxyd reduziert, da das Präparat stets Kupfer(I)-oxyd oder Kupfer

enthält. Bei dieser Reaktion entsteht Kupfernitrat, das beim Erhitzen in feinverteiltes Kupferoxyd übergeht. Dieses ist zufolge seiner großen Oberfläche besonders wirksam und verursacht zunächst eine Leistungssteigerung. Mit steigender Temperatur sintert es jedoch zusammen und seine Wirksamkeit nimmt ab.

Das vorliegende Präparat verhält sich also wie grobes Kupferoxyd, das mit feinem Kupferoxyd (durch thermische Zersetzung) überzogen worden ist. Einen ähnlichen Kurvenverlauf haben wir bereits früher³ bei grobem Kupferoxyd beobachtet, das von vornherein mit Kupfernitrat imprägniert worden war.

4. Kobalt(II, III)-oxyd-Asbest

Nach dem Vorschlag von VEČEŘA u. Mitarb.⁷ wurde Asbest mit Kobaltnitrat getränkt und kurz auf 600° C erhitzt. Von diesem Präparat erhielten wir die in Abb.4, Ziffer 1 dargestellte Verbrennungskurve. Diese erreicht bei 500° C mit einer Oxydationsleistung von 95% ein Maximum; dann sinkt die Leistung bei 550° C auf 75% ab und gelangt bei 660° C auf 100%.

Zum Vergleich haben wir die Verbrennungskurven der einzelnen Komponenten des Gemisches (mit gleichen Gewichtsmengen) aufgenommen (Ziffer 2: Asbest, Ziffer 3: Co_3O_4). Wie man sieht, ist die Oxydationsleistung von Asbest zunächst erwartungsgemäß Null. Ab 600°C steigt die Kurve zwar an, doch ist dies nicht durch Asbest, sondern durch die unmittelbare Reaktion des gasförmigen Sauerstoffs mit Methan bedingt. Die reine Co_3O_4 -Komponente ist, wie vorhin bereits erwähnt, sehr wirksam. Ihre Oxydationsleistung liegt sogar höher als die des Mischpräparates. Dies bedeutet, daß Asbest die Leistung von Co_3O_4 beträchtlich *vermindert*.

Als Erklärung können wir in diesem Falle annehmen, daß die wirksame Komponente ($\text{Co}_3\text{O}_4 \cdot x\text{O}_2$) in einer Festkörperreaktion durch Asbest zum Teil abgebunden wird und dabei in eine wenig wirksame Verbindung übergeht.

Die Bildung einer Verbindung läßt sich unmittelbar in Kohlendioxydatmosphäre erkennen, wenn man das Präparat erhitzt. Hierbei wird die anfänglich dunkelgraue Schicht heller. Gleichzeitig nimmt die Oxydationsleistung ab. In Sauerstoff bleibt die Schicht dunkelgrau, da die Kobalt-Asbest-Verbindung zumindest an der Oberfläche oxydiert wird.

Der nachteilige Einfluß von Asbest als Träger läßt sich jedoch, wie wir früher² empirisch gefunden haben, durch Verwendung einer größeren Kobaltoxydmenge kompensieren. Dies ist verständlich: durch den Überschuß wird die Asbestoberfläche zunächst mit Co_3O_4 abgesättigt. Das restliche Kobaltoxyd ist dann die eigentlich wirksame Komponente.

Eine Inaktivierung durch Asbest haben wir² auch bei Nickeloxyd beobachtet. Hierbei bildet sich Nickelsilicat, das oxydativ kaum wirksam ist. Kürzlich fanden IIDA u. SHINADA¹ bei Untersuchung der Oxydation von Wasserstoff an Nickeloxyd-Aluminiumoxyd, daß auch Aluminiumoxyd inaktivierend wirkt.

5. Zersetzungsprodukt von Silberpermanganat

Das von KÖRBL⁵ angegebene thermische Zersetzungsprodukt von Silberpermanganat gehört ebenfalls in die Reihe der Mischpräparate, da das Zersetzungsprodukt aus *Mangandioxyd* und *Silber* besteht (vgl.

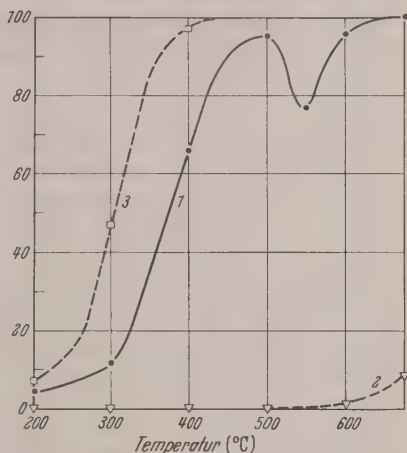


Abb. 4. Verbrennung von Methan: 1 am Mischpräparat Co_3O_4 -Asbest; 2 an der Asbest-Komponente; 3 an der Co_3O_4 -Komponente (Spillgas Sauerstoff)

auch LYSYJ u. ZAREMBO⁶). Nach KÖRBL soll die gute Oxydationsleistung dieses Produkts vor allem auf die Anwesenheit von Silber zurückzuführen sein. Da diese Ansicht eine Ausnahme zu den oben gefundenen Zusammenhängen darstellen würde, so haben wir die Verbrennungskurve dieses Präparates in Sauerstoff mit der Kurve von reinem Mangandioxyd (in gefällter Form) verglichen.

Abb. 5a zeigt nun, daß gefälltes Mangandioxyd (Ziffer 1) in Sauerstoffatmosphäre sogar wirksamer ist als das zersetzte Silberpermanganat, das

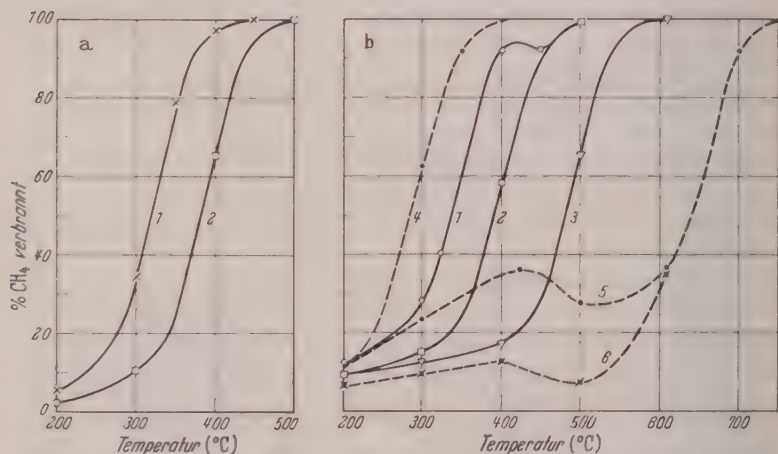


Abb. 5. Oxydationsleistung von Mangandioxyd und zersetztem Silberpermanganat: a in Sauerstoff: 1 Mangandioxyd; 2 Silberpermanganat (beide nach Tempern bei 500° C). b in Kohlendioxyd. Silberpermanganat nach Tempern bei 150° C (1), bei 500° C (2) und bei 600° C (3). Gefälltes Mangandioxyd nach Tempern bei 150° C (4), bei 500° C (5) und bei 600° C (6)

Mangandioxyd — Silber enthält (Ziffer 2). Es scheint daher unwahrscheinlich, daß Silber die Oxydationsleistung von Mangandioxyd in Sauerstoffatmosphäre (unterhalb 500° C) verbessert.

Eine Verbesserung der Oxydationsleistung von Mangandioxyd durch Silber ist jedoch auf Grund unserer Darlegungen in Kohlendioxydatmosphäre zu erwarten. Der Nachweis hierfür ist in Abb. 5b erbracht, wo die Verbrennungskurven von zersetztem Silberpermanganat und reinem Mangandioxyd nach verschiedener thermischer Vorbehandlung einander gegenübergestellt sind.

Man sieht, daß gefälltes Mangandioxyd (Ziffer 4) nach Tempern bei 150° C zunächst wirksamer ist als das bei 150° C zersetzte Silberpermanganat (Ziffer 1). Tempert man aber beide Produkte bei 500° C, so ändern sich die Wirksamkeiten grundlegend. Die Mindesttemperatur beträgt dann bei gefälltem Mangandioxyd 750° C (Ziffer 5), bei zersetztem

Silberpermanganat aber 510° C (Ziffer 2). Auch nach Tempern bei 600° C bleibt das Zersetzungsprodukt wirksamer: die Mindesttemperatur von gefällttem Mangandioxyd liegt wieder bei 750° C (Ziffer 6), während die von zersetztem Silberpermanganat 610° C beträgt (Ziffer 3).

Bei reinem Mangandioxyd tritt also in Kohlendioxydatmosphäre bei 500° C ein außerordentlicher Leistungsabfall ein, während die Oxydationsleistung von zersetztem Silberpermanganat nicht in diesem Maße abfällt.

Es läßt sich nun zeigen, daß der starke Leistungsabfall bei Mangandioxyd dadurch bedingt ist, daß es in Kohlendioxydatmosphäre bei 500° C weitgehend zu Mn_2O_3 zersetzt wird. Dieses ist oxydativ weniger wirksam; seine Verbrennungskurve erreicht erst bei 750° C den 100% Wert. Zweifellos wird auch Silberpermanganat bei 500° C zu Mn_2O_3 (+ Ag) zersetzt; darauf weist schon die starke Sauerstoffentwicklung hin. Bei 500° C wirkt jedoch das Silber bereits auf Mn_2O_3 ein und erhöht den Sauerstoffpartialdruck von Mn_2O_3 sowie die Oxydationsleistung des Präparats. Ob sich bei dieser Festkörperreaktion eine definierte Verbindung bildet, wie etwa bei $CuO-Cr_2O_3$, oder ob die Sauerstoffabspaltung durch Platzwechselreaktionen im Gitter zustande kommt, muß noch offengelassen werden.

Vergleichende Betrachtungen

Die angeführten Beispiele zeigen, daß die Oxydationsleistung eines Mischpräparates in Sauerstoff bestenfalls gleich ist der Leistung der einzelnen Komponenten. Falls die Komponenten des Gemisches bei erhöhter Temperatur (oberhalb 450° C) eine inaktive Verbindung bilden, so kommt es sogar zu einer Erniedrigung der Oxydationsleistung.

In analytischer Hinsicht folgt aus diesen Versuchen, daß Mischpräparate in Sauerstoffatmosphäre nicht die Rolle spielen, die ihnen in Kohlendioxydatmosphäre zukommt. Von den Präparaten auf Kupferoxydbasis kann für die C-H-Bestimmung nur $CuO-Co_3O_4$ empfohlen werden. Es ist jedoch vorteilhaft, die auf Kupferoxyd aufgebrachte Co_3O_4 -Menge größer zu wählen als in den vorliegenden Versuchen, um im Falle der Desaktivierung noch ein genügend leistungsfähiges Präparat zu besitzen.

Experimentelles

Zur Aufnahme der dargestellten Verbrennungskurven wurden die bereits früher³ beschriebenen Vorrichtungen benutzt.

Versuche zu Abb. 1. 3,590 g getrocknetes, drahtförmiges Kupferoxyd wurde mit einer Lösung von 0,166 g Ammoniumdichromat in 3 ml zur Trockene eingedampft. Das Präparat wurde in einem Verbrennungsrohr unter Durchleiten von Sauerstoff $\frac{1}{2}$ Std auf 600° C erhitzt und erneut gewogen. Die Gewichtszunahme betrug 15 mg (= Cr_2O_3). Von diesem Mischpräparat wurde sodann eine Verbrennungskurve in Sauerstoff aufgenommen (Ziffer 1).

Sodann wurde reines Ammoniumdichromat bei 600° C zersetzt. Das entstandene voluminöse Chromoxyd wurde gepulvert und 15 mg davon mit so viel Quarzsplitter vermisch, daß eine 2,5 cm lange Schicht entstand. Von dieser Schicht wurde ebenfalls eine Verbrennungskurve in Sauerstoff aufgenommen (Ziffer 2). Schließlich wurde auch die Verbrennungskurve von 3,59 g grobem Kupferoxyd ermittelt (Ziffer 3).

Versuche zu Abb. 2. 21,5 g grobes Kupferoxyd wurden mit einer Lösung von 1 g Kobaltnitrat versetzt und zur Trockene eingedampft. Das Präparat wurde sodann bei 500° C denitriert. Die Verbrennungskurve wurde mit 3,595 g dieses Mischoxyds aufgenommen (Ziffer 1). Zur Bestimmung der Wirksamkeit von reinem Co_3O_4 (Ziffer 2) wurde Kobaltnitrat in einem Tiegel zersetzt und das erhaltene Oxyd gepulvert. 49 mg des gepulverten Oxyds wurden sodann mit Quarzsplitter vermisch (Schichtlänge 2,5 cm).

Versuche zu Abb. 3. 21,5 g grobes Kupferoxyd wurden mit einer Lösung von 1 g Silbernitrat zur Trockene eingedampft und auf 500° C (zur Zersetzung des Nitrats) erhitzt. Die Verbrennungskurve wurde mit einer 2,5 cm langen Schicht bestimmt.

Versuche zu Abb. 4. 0,26 g Asbest wurden mit einer Lösung von 0,178 g Kobaltnitrat versetzt und nach Zugabe von etwas Ammoniak zur Trockene eingedampft. Die Zersetzung zu Co_3O_4 erfolgte bei 600° C. Von dem Mischpräparat wurde sodann eine Verbrennungskurve aufgenommen (Ziffer 1). Die Verbrennungskurve des Co_3O_4 -Anteils wurde von Abb. 2 übernommen.

Versuche zu Abb. 5a. Gefälltes Mangandioxyd sowie Silberpermanganat wurden 2 Std unter Durchleiten von Sauerstoff bei 500° C getempert. Mit einer Schichtlänge von 2,5 cm wurden die Verbrennungskurven in Sauerstoff ermittelt.

Versuche zu Abb. 5b. Gefälltes Mangandioxyd sowie Silberpermanganat wurden im Kohlendioxidstrom bei 150°, 500° und 600° C getempert (2 Std). Von diesen Präparaten wurden sodann in Kohlendioxyd die Verbrennungskurven bestimmt (Schichtlänge 2,5 cm).

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Oxydationsleistung von verschiedenen Mischpräparaten in Sauerstoffatmosphäre untersucht. Es wird gezeigt, daß sich die Oxydationsleistung dieser Präparate unterhalb 450° C lediglich aus den Leistungen der Einzelkomponenten zusammensetzt. Oberhalb 450° C tritt oftmals eine Festkörperreaktion zwischen den Komponenten des Mischpräparates ein. Falls hierbei eine oxydativ stark wirk-same Komponente in eine weniger wirksame Verbindung umgewandelt wird, so sinkt die Oxydationsleistung des Mischpräparates stark ab.

Von den untersuchten Mischpräparaten erwies sich Kupferoxyd-Kobaltoxyd als sehr geeignet; eine 2,5 cm lange Schicht genügt, um Methan bereits bei 440° C quantitativ zu oxydieren.

Literatur

- ¹ IIDA, Y., u. K. SHINADA: Bull. chem. Soc. (Japan) **33**, 8 (1960). — ² KAINZ, G., u. L. HAINBERGER, S. J.: diese Z. **169**, 409 (1959). — ³ KAINZ, G., u. H. HORWATITSCH: diese Z. **175**, 272 (1960). — ⁴ KAINZ, G., u. H. HORWATITSCH: diese Z. **177**, 321 (1930). — ⁵ KÖRBL, J.: Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1705; diese Z. **157**, 34 (1957). — ⁶ LYSYJ, I., u. J. E. ZAREMBO: Microchemic. J. **2**, 245 (1958); vgl. diese Z. **170**, 447 (1959). — ⁷ VEČEŘA, M., D. ŠNOBL u. L. SYNEK: Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 9; vgl. diese Z. **163**, 384 (1958).

Univ.-Dozent Dr. GERALD KAINZ, Analytisches Institut der Universität, Wien IX, Währingerstr. 38 (Österreich)

Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization
Division of Building Research, Highett, Victoria, Australia

Determination of Sodium Sulphate, Calcium Chloride and Sodium Chloride in Gypsum Plaster

By
E. HOFFMANN

(Received July 30, 1960)

During an investigation of efflorescence phenomena on plaster walls three analytical problems were encountered, namely, (1) to determine sodium sulphate in the presence of calcium sulphate and sodium chloride; (2) to determine calcium chloride in the presence of calcium sulphate and sodium chloride; and (3) to determine sodium chloride in the presence of calcium chloride and calcium sulphate. The salts are present in aqueous solution. The obvious method to overcome the first problem is to determine calcium, total sulphate and chloride, and then to find the sodium sulphate by difference. However, this is time consuming, apart from becoming very inaccurate if the quantities of sodium sulphate are small, and a more direct method is preferable. With the method described here it is possible to determine sodium sulphate, calcium chloride and sodium chloride directly by a simple colourimetric method.

Determination of Sodium Sulphate in the Presence of Calcium Sulphate and Sodium Chloride

BERTOLACINI and BARNEY² determined sodium sulphate colourimetrically by adding barium chloranilate to the solution of sodium sulphate. These react to give barium sulphate and chloranilic acid, the intense colour of the latter being determined with a spectrophotometer. The present author has found that if calcium sulphate is also present in solution the above method only liberates chloranilic acid equivalent to the sodium sulphate. The calcium sulphate also reacts with the barium chloranilate to give barium sulphate and calcium chloranilate. However, the latter is insoluble and does not add anything to the colour produced.

Solutions. *Chloranilic Acid* in water (approximately 0.07 per cent).

Buffer Solution containing 19 g acetic acid and 6.6 g sodium acetate in 200 ml water (when diluted ten times this gives a solution of pH 4).

Procedure. Standardisation of chloranilic acid solution is effected by shaking 10 ml of a solution containing known amounts of sodium sulphate (about 3 mg) with 0.2 g barium chloranilate for 10 minutes. Filter and take aliquot*, dilute to

* Choose the aliquot so that between 1 and 2 ml of chloranilic acid are used to match the colours.

5 ml and add 0.5 ml buffer solution. In a second test tube place 5 ml of water, 0.5 ml of buffer solution and then chloranilic acid solution from a burette until

Table 1. *Determination of Sodium Sulphate*

Sodium sulphate introduced mg	0.5	2.0	10
Sodium sulphate determined in aqueous solution (mg)	0.53 0.5 0.55	2.1 2.1 2.07	10.5 10.5 9.5
Sodium sulphate determined in saturated solution of calcium sulphate containing 0.1% sodium chloride (mg)	0.48 0.52 0.45	2.0 2.1 1.9	9.5 9.5 10.5

the colours match. It is possible to find the end point within 0.05 ml solution. To determine sodium sulphate in presence of calcium sulphate proceed as in the standardisation.

Some results are recorded in Table 1.

Determination of Calcium Chloride in the Presence of Calcium Sulphate and Sodium Chloride

BARRETO¹ seems to have been the first to propose that chloranilic acid should be used for determining calcium. He precipitated the calcium with chloranilic acid and determined the surplus with a colourimeter. In the case under discussion the sole interest is in the calcium that is present as calcium chloride, and the calcium sulphate must therefore be eliminated. This can be simply done by adding barium chloranilate, which reacts with the calcium sulphate to give barium sulphate and calcium chloranilate. When this reaction has proceeded to the end chloranilic acid is added and the calcium is determined in the usual way.

Table 2. *Determination of Calcium Chloride*

Calcium chloride introduced mg	0.65	12
Calcium chloride determined in aqueous solution (mg)	0.62 0.63 0.67	12.3 11.6 12.4
Calcium chloride determined in saturated solution of calcium sulphate containing 0.1% sodium chloride (mg)	0.61 0.65 0.63	12.0 12.6 12.4

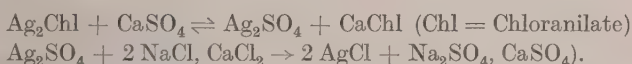
The solutions used are the same as in previous case. Standardisation of chloranilic acid solution is effected by adding an excess of chloranilic acid to 10 ml of a solution containing a known amount of calcium chloride (about 2 mg). Allow to stand for about 10 minutes, filter and take an aliquot. Dilute to 5 ml and add 0.5 ml of buffer solution. Then analyse for the quantity of chloranilic acid in the same manner as before.

To determine calcium chloride in presence of calcium sulphate add 0.2 g of barium chloranilate to 10 ml of the solution. Shake for 10 minutes and add surplus of chloranilic acid. Filter, take an aliquot, and proceed as in the standardisation.

Determination of Sodium Chloride in the Presence of Calcium Chloride and Calcium Sulphate

COUTINHO and ALMEIDA³ have shown that sodium chloride can be determined by adding silver chloranilate to the solution and then analysing for the liberated chloranilic acid. The present author has found that if calcium chloride is present at the same time the only amount of chloranilic acid equivalent to the sodium chloride is set free, because the calcium chloranilate formed by the reaction between silver chloranilate and calcium chloride is insoluble. However, it is necessary to eliminate the calcium sulphate before silver chloranilate is added. (Calcium sulphate reacts with silver chloranilate to form calcium chloranilate and equilibrium amounts of silver sulphate. The latter could then react with the chlorides, disturbing the equilibrium and allowing formation of additional amounts of silver sulphate. This reaction would not form any chloranilic acid.

In short:



This is best achieved by adding a small surplus of barium chloride to convert the calcium sulphate into barium sulphate. The surplus of barium chloride reacts with silver chloranilate in the same way as calcium chloride, forming the insoluble barium chloranilate.

In addition to the chloranilic acid and buffer solutions already described a solution containing 30 mg barium chloride per ml is needed.

Standardisation of chloranilic acid solution is affected by shaking 10 ml of a solution containing known amounts of sodium chloride (2 to 3 mg) with silver

Table 3. *Determination of Sodium Chloride*

Sodium chloride introduced mg	0.76	11.0
Sodium chloride determined in aqueous solution (mg)	0.67	11.2
	0.72	11.0
	0.69	10.7
Sodium chloride determined in saturated solution of calcium sulphate containing 0.2% calcium chloride (mg)	0.68	11.4
	0.73	11.2
	0.71	10.7

chloranilate for 10 minutes. Filter and proceed as described for the determination of sodium sulphate. To analyse for sodium chloride in presence of calcium sulphate and calcium chloride, add 1 ml of the solution of barium chloride to 10 ml of the solution and then proceed as in the standardisation.

Some results of tests in which the method was used are given in Table 3.

Analysis of an Extract of Gypsum Plaster Containing Sodium Sulphate and of a Plaster Containing Calcium Chloride and Sodium Chloride

Plaster containing known amounts of sodium sulphate was prepared by mixing 30 g calcium sulphate hemihydrate with 20 ml water containing sodium sulphate.

Table 4. *Analysis of Extracts of Plaster Containing Various Salts*

Salt in plaster	Amount of salt determined by analysis %
Sodium sulphate (0.35%)	0.31
	0.32
	0.36
Sodium chloride (0.5%)	0.46
	0.48
	0.50
Calcium chloride (0.3%)	0.33
	0.28

Plaster containing known amounts of calcium chloride and sodium chloride was prepared in a similar manner. When dry the plaster was ground and mixed and a 10 g sample was shaken with 50 ml water. 10 ml of the extract was used for analysis. Results of some analyses by this method are given in Table 4.

Summary

It has been shown that chloranilic acid and its salts can be used to determine sodium sulphate in the presence of calcium sulphate, calcium chloride in the presence of calcium sulphate, and sodium chloride in the presence of calcium chloride. The analysis is direct, the separation from non-desired components being carried out at the same time as the determination itself.

One aspect of the use of chloranilic acid should be stressed, namely, that it sometimes is possible to differentiate between two salts that have the same anion but different cations, and examples have been given in this paper.

References

- ¹ BARRETO, A.: *Rev. Quím. ind.* **14**, No. 163, 18 (1945). — ² BERTOLACINI, R. J., and J. E. BARNEY II: *Analyt. Chemistry* **29**, 281 (1957); cf. *Z. analyt. Chem.* **158**, 292 (1957). — ³ COUTINHO, A. B., and M. D. ALMEIDA: *An. Assoc. quím. Brazil* **10**, 83 (1951), (cited in²).

Dr. E. HOFFMANN, Graham Road, Highett S. 21, Victoria (Australia)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Spektralanalyse. A. DANIELSSON und G. SUNDKVIST¹ berichten in einer 3. Mitteilung² über die „Tape-Maschine“ über *Zweckmäßige Korrekturen bei der spektrochemischen Analyse mit der „Tape-Technik“*. Die „Tape-Maschine“ stellt eine Vorrichtung dar, bei der ein klebriges mit dem fein pulverisierten Analysenmaterial beschicktes Band stetig durch die Entladungsstrecke gezogen wird, so daß hierständig die frische noch nicht durch Verdampfungs- und ähnliche Vorgänge veränderte Analysensubstanz zur Anregung kommt. Die Folge ist eine wesentliche Steigerung der Analysengenauigkeit und der Reproduzierbarkeit, so daß es sich jetzt lohnt, auch Intensitätsbeeinflussungen von Analysen- und Bezugslinien durch Untergrund und Selbstabsorption zu untersuchen. Die Verff. berichten zunächst, allerdings recht unvollständig, über die Natur des Untergrundes und seine Korrekturmöglichkeiten. Sie legen sich darauf fest, den Untergrund bei der Wellenlänge 4116 Å als Bezugswert für den bei den interessierenden Linien zu verwenden, und gewinnen ihn durch Messung sogenannter Nullproben, die kein Element mit Linien der betrachteten Wellenlängen enthalten. Die Korrektur der Selbstabsorption wird am Beispiel des Cadmiums als Bezugselement behandelt. Und zwar wollen die Verff. das Intensitätsverhältnis einer Selbstabsorptionslinie zu einer Linie mit vernachlässigbarer Selbstabsorption in Beziehung setzen zu der Linie eines Bezugselements. Hierzu wählen sie merkwürdigerweise die vom Grundzustand ausgehende Cd-I-Singulettlinie 2288 und die vom tiefsten Triplettzustand ausgehende Cd-I-Triplettlinie 4800. Nun werden in der „Tape-Maschine“ einige Proben mit festem Cadmium- und wechselndem Kupfergehalt mit verschieden starkem gegen die Funkenstrecke blasenden Luftstrom aufgenommen. Die Verff. erwarten, daß dadurch die Selbstabsorptionsverhältnisse geändert werden, und tragen die gemessenen Intensitätsquotienten Cu 3274/Cd 4800 als Funktion von Cd 2288/Cd 4800 für verschiedene Kupfergehalte auf. Die so gewonnenen Kurven werden dann in eine Gruppe von Eichkurven mit verschiedenen Absorptionswerten als Parameter umgezeichnet. Die Versuchsergebnisse sind dem Referenten ziemlich unverständlich, zumal alle 3 vorerwähnten Linien gemäß ihrer Stellung im Termsystem starke Selbstabsorption aufweisen müssen. Die Verff. berichten und zeigen an Hand von 2 Tabellen, daß die Korrekturen höhere Genauigkeiten für Zn, Pb und Cu erreichen ließen.

¹ Spectrochim. Acta 15, 134–137 (1959). Boliden Mining Co. Skelleftehamn (Schweden). — ² Frühere Mitteilungen A. DANIELSSON, F. LUNDGREN u. G. SUNDKVIST: Spectrochim. Acta (London) 1959, 122, 126; vgl. diese Z. 176, 282 (1960).

J. VAN CALKER

Die Genauigkeit der Differentialphotometrie bei höheren Konzentrationen an Nickel-, Kobalt-, Chrom- und Kupferperchloratlösungen untersuchen S. D. ROSS und D. W. WILSON¹. Nach allgemeinen Betrachtungen zur Genauigkeit differentialphotometrischer Verfahren wird folgende Methodik angegeben: Man gibt die Standardlösung kleinerer Konzentration (R) in den Strahlengang des Photometers und stellt mit der Spaltweite auf 100% Durchlässigkeit um. Dann bringt man den Standard höherer Konzentration (R_1) in den Strahlengang und stellt mit dem Dunkelstrom die Durchlässigkeitsskala auf Null. Diese Einstellungen von R und R_1

werden so lange wiederholt, bis R und R_1 durch Regulierung des Spaltes bzw. des Dunkelstromes auf 100% bzw. 0% Durchlässigkeit einreguliert sind. Dann wird bei konstantem Spalt und Dunkelstrom mit bekannten Lösungen die Eichgerade aufgestellt. Die Kompensierung des höheren Standards (R_1) mit dem Dunkelstrom auf Null gelingt mit dem Unicam SP 500 nur, wenn die Durchlässigkeit der Lösung R_1 weniger als 22% ($E \geq 0,66$) beträgt. (Anmerkung des Referenten: Andere handelsübliche Spektralphotometer ergeben etwa die gleiche Begrenzung; z. B. Unicam SP 600 ab 33% Durchlässigkeit.) Diese Begrenzung schränkt das Verfahren allerdings kaum ein, da bei Anwendung der Differentialphotometrie immer hohe Konzentration gemessen werden. Die nach dieser Versuchsmethodik gefundenen Werte für Nickel, Kobalt, Kupfer und Chrom ergeben sehr kleine Streuungen und hohe Genauigkeiten, die denen üblicher photometrischer Messungen ebenbürtig sind².

¹ Analyst **85**, 51–54 (1960). Sir John Cass College, London (England). —

² SPECKER, H., E. JACKWERTH u. H. HARTKAMP: Diese Z. **159**, 165 (1958).

H. SPECKER

Die Trennung von Kationen der III. analytischen Gruppe an Kationenaustauschern untersuchen A. I. KOMLEV und A. A. CHOMAČKAJA¹. Für den Kationit SBS-1 stellen Verff. die relative Größe der Absorptionsenergie fest: $Ni^{2+} \leq Co^{2+} < Mn^{2+} < Zn^{2+} < Fe^{3+} < Al^{3+}$. Mit den Typen SBS-1 und KU-1 gelingt die Abtrennung des Nickels von Eisen quantitativ, wenn mit 1 n Natriumchloridlösung unter Zusatz von etwas H_2O_2 eluiert wird. Die Trennung Mn/Fe erfolgt unter gleichen Bedingungen. Mit dem Typ KU-2 gelingt die Trennung Ni/Fe, wenn die Säule mit Ammoniak vorbehandelt wurde und mit 2 n Ammoniumchloridlösung eluiert wird. Die Trennschärfe hängt im Bereich Ni^{2+}/Fe^{2+} bzw. $Mn^{2+}/Fe^{3+} = 1:1$ bis $1:50$, nicht von der Zusammensetzung des Gemisches ab. Die Trennung Co^{2+} von Fe^{3+} ist unter den angegebenen Bedingungen nicht möglich.

¹ Ukrain. chim. ž. **26**, 113–116 (1960) [Russisch]. Staatl. Univ. „Ivan Franko“, Lvov.

H. WUNDERLICH

Papierchromatographie. H. CHALOPIN¹ weist darauf hin, daß bei einer zweidimensionalen Trennung die falsche Wahl bei der aufeinanderfolgenden Benutzung verschiedener Lösungsmittel eine Zurückhaltung von Substanzen bewirken kann und damit, z. B. bei der Chromatographie von Steroiden, eine nicht vorhandene Substanz vortäuschen kann, bzw. bei der quantitativen Analyse zu falschen Ergebnissen führt.

¹ Bull. Soc. Chim. biol. **41**, 1539–1544 (1959). Fac. Méd. Paris (Frankreich).

E. BAYER

Als Sprühreagentien für die Chromatographie empfehlen I. A. PEARL und P. F. MCCOY¹ käufliche, stabilisierte Diazoniumsalze, z. B. *Fast Red Salt GG*, ein Diazoniumsalz des *p*-Nitranilins, welches als 0,05% ige wäßrige Lösung verwendet wird. Die Substanzen haben den Vorteil, daß die Reagentien nicht erst unmittelbar vor Gebrauch hergestellt werden müssen, wie das bei den anderen Diazoniumverbindungen der Fall ist. Verwendet wurden die Verbindungen für die Untersuchung des Holzes; es können mit 30 stabilisierten Diazoniumsalzen 20 verschiedene Phenole nachgewiesen werden.

¹ Analyt. Chemistry **32**, 132 (1960). Inst. of Paper Chemistry, Appleton, Wis. (USA).

G. DENK

Reduktionschromatographie von Kationen. Die unterschiedliche Reduktionswirkung von Zink, Aluminium und Eisen gegenüber den Kationen edlerer Metalle (Cadmium, Blei, Nickel, Kupfer, Silber) nützen A. GÓRSKI und E. KŁOCZKO¹ zur Trennung dieser Ionen aus, indem sie deren Lösungen durch eine mit dem

betreffenden Metall gefüllte Säule fließen lassen. Als besonders wirksam haben sich *Säulenfüllungen aus kugelförmigem Eisenpulver* (0,3–0,5 mm $\varnothing$) erwiesen, während Zink und Aluminium wegen der Wasserstoffentwicklung in der Säule ungeeignet sind. Das von den Verff. „Reduktionschromatographie“ genannte Verfahren läßt theoretisch sehr hohe Trennfaktoren zu. Es wurde in Modellversuchen an neutralen, ammoniakalischen und cyanidhaltigen 0,01 m Lösungen von Cadmium, Blei, Nickel, Kupfer und Silber, vornehmlich nach dem Verfahren der Frontalanalyse, geprüft. Dabei wurden im Eluat deutliche Stufen gemessen. Silber und Kupfer bilden in der Säule scharf begrenzte Zonen, letzteres nur in Gegenwart von Silber. Die Abscheidung der Ionen folgt dem Gang ihrer Normalpotentiale; eine Ausnahme macht bei den cyanidhaltigen Lösungen das Kupfer. Dies wird auf die Stabilität des Kupfer-Cyanidkomplexes zurückgeführt.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 634–639 (1959). Poln. Akad. Wiss., Warschau
H. HARTKAMP

Elektrolytische Chromatographie. Die von A. GÓRSKI und J. MOSZCZYŃSKA¹ beschriebene „elektrolytische Chromatographie“ beruht ebenso wie die Reduktionschromatographie (vgl. vorstehendes Referat) auf den unterschiedlichen Reduktionspotentialen der zu trennenden Kationen. Die Trenneinrichtung besteht aus einer am unteren Ende durch einen Hahn verschlossenen Säule, die mit einer isolierenden, mit Wasser nicht mischbaren, spezifisch schweren Flüssigkeit (z. B. Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff) gefüllt ist und vertikal von einem genügend hochohmigen Leiter (Graphitstab) durchzogen ist, dessen Enden mit den beiden Polen einer Gleichspannungsquelle verbunden werden. Schichtet man die zu analysierende Lösung über das inerte Lösungsmittel und senkt dann durch Öffnen des Hahnes die Phasengrenzfläche allmählich ab, so setzt wegen des zunehmenden Spannungsabfalles zwischen dem oberen Säulenende und der Phasengrenzfläche eine Elektrolyse ein, die bei langsamem Flüssigkeitsstrom zur stufenweisen Abscheidung der in der Lösung erhaltenen Ionen nach Art der Frontalanalyse führt. — Schließt man am oberen Ende des Graphitstabes eine parallel durch die Säule laufende blind endende Verzweigung aus gut leitendem Material (Platin) an und bringt nur eine geringe Flüssigkeitsmenge in die Säule, so werden die Kationen in einzelnen, getrennten Ionen abgeschieden, weil der Platinleiter sich stets auf dem Potential der Verzweigungsstelle befindet, so daß beim Absinken der Flüssigkeit eine wachsende Potentialdifferenz zwischen Platin und Graphit auftritt. Bei ausreichend langsamer Fließgeschwindigkeit (einige Milliliter/Stunde) und genügender Elektrolysestromstärke sind die Trennungen vollständig. Als Beispiele führen die Verff. die Trennung von *Silber, Kupfer, Cadmium, und Zink* an. Die Arbeit enthält mehrere Vorschläge für die Konstruktion der Säulen.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 640–648 (1959). Poln. Akad. Wiss., Warschau.
H. HARTKAMP

Polarographie. E. N. VINOGRADOVA und G. V. PROCHOROVA¹ verwenden zur polarographischen Bestimmung von Ultramikromengen eine stationäre Quecksilberelektrode. An dem als Kathode geschalteten stationären Quecksilbertropfen werden zuerst die zu bestimmenden Kationen in Form ihrer Amalgame abgeschieden, dann wird die Quecksilberkathode anodisch polarisiert und ein anodisches Polarogramm aufgenommen. Verff. geben als Beispiel die *Bestimmung von Blei in Zinkacetat und Aluminiummaluren* an: Die Probe wird in bleifreiem Wasser gelöst, 30 min mit Wasserstoff entlüftet und dann 15 min bei –0,8 V unter Rühren elektrolysiert. Hierauf wird in acetatgepufferter Lösung (1 n CH_3COOH –1 n CH_3COONa) anodisch polarographiert. Die Auswertung der auftretenden Stufe im Polarogramm (bei –0,49 V gegen die gesätt. Kalomelektrode) erfolgt nach der

Zusatzmethode. Für jedes Polarogramm muß ein gleich großer frischer Quecksilbertropfen als Anode bzw. Kathode verwendet werden, was mit Hilfe einer geeigneten Elektrode mit graduiertem Vorratsgefäß genügend genau gelingt. Die angegebene Elektrolysiszeit (15 min) muß genau eingehalten werden, da die Stufenhöhe im Polarogramm proportional zur Elektrolysendauer zunimmt. Die mitgeteilten Analysenwerte ergeben für Zinkacetat $0,66 \cdot 10^{-5}$ bis $1,10 \cdot 10^{-5} \%$ Pb, für $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$: $1,02 \cdot 10^{-5}$ bis $1,9 \cdot 10^{-5} \%$ Pb.

¹ Zavodskaja Laborat. 26, 41–45 (1960) [Russisch]. Lomonosov-Univ. Moskau (UdSSR).
H. WUNDERLICH

Die Bestimmung der Radioaktivität von fein zerteilten festen Substanzen durch Suspension in einem Gelscintillator wird von S. HELF, C. G. WHITE und R. N. SHELLEY¹ für Salze der Atomarten ^{90}Sr , ^{90}Y , ^{36}Cl , ^{63}Ni , ^{22}Na , ^{133}Ba und für ^{14}C - und ^3H -Verbindungen angewandt. Im Gegensatz zur bisherigen Messung von meist gelösten ^{14}C -Verbindungen in flüssigen Scintillatoren können nach dieser Methode schwerlösliche Substanzen und solche mit niedrigerer spezifischer Aktivität als Suspension oder auch als Gel zur Messung gebracht werden. Es werden Gelatinierungsmittel wie Aluminiumstearat und die thixotropischen Mittel Thixein und Cal-O-Sil, in flüssigen Scintillatoren (Scintillatoren gelöst in Toluol) angewendet. Hierdurch können größere Substanzmengen verwendet werden, die sonst Trübungen in Scintillationsflüssigkeiten und auch Löschung der Scintillation oder Selbstabsorption der Strahlung verursachen. — Einzelheiten über die Durchführung der Messungen und über die Ergebnisse mögen in der Originalarbeit eingesehen werden.

¹ Analyt. Chemistry 32, 238–241 (1960). Picatinny Arsenal, Dover, N. J. (USA).
S. PRAKASH

Die Isotopenverdünnungsmethode, ihre allgemeinen Gesetze und ihre Verwendung in der Analyse besprechen I. P. ALIMARIN und G. N. BILIMOVITCH¹. Im einzelnen werden folgende Methoden angeführt: Die Verdünnung mit radioaktiven Isotopen (direkte Isotopenverdünnung), die Verdünnung mit inaktiven Isotopen (umgekehrte Isotopenverdünnung), die mehrfache Verdünnung mit inaktiven Isotopen (doppelte Isotopenverdünnung), die Derivatverdünnungsmethode (besonders bei biologischen Untersuchungen verwendet), sowie eine weitere mehrfache Verdünnungsmethode für die Bestimmung kleiner Mengen von Verunreinigungen (10^{-5} bis $10^{-7} \%$). Weiterhin wird eingegangen auf die richtige Auswahl der Isotope, die Bedeutung der Reinheit der wiedergewonnenen Verbindungen sowie die Genauigkeit des Verfahrens. Anschließend wird die Anwendung in der anorganischen Analyse besprochen und folgende Beispiele werden gebracht: *Bestimmung von Tantal in Legierungen neben Niob*. Während die chemische Analyse (a) (Fällung mit Tannin) fehlerhafte Werte lieferte, war die Übereinstimmung der durch Isotopenverdünnung (b) nach vorhergehender Abscheidung mit dem Ammoniumsalz der benzolselenigen Säure (A) und (c) durch β -back-scattering erhaltenen Werte gut. Zum Beispiel fand man bei einer 102,10 mg-Probe mit Zusatz von ^{182}Ta (24470 Imp/min) nach (a) 25,4% Ta, (b) 38,5% Ta und (c) 40,0% Ta. — *Bestimmung von Niob neben Zirkonium*. Niob wurde aus einer Lösung, die 0,5% Citronensäure und 15% Salzsäure enthielt, unter Zusatz von ^{95}Nb (4800 Imp/min) mit A ausgefällt; man erhielt bei einem Verhältnis Nb:Zr = 1:25 und bei doppelter Fällung gute Resultate mit einem Fehler von etwa $\pm 1\%$. — *Bestimmung von Tantal neben Zirkonium*. Die Trennung des Ta vom Zr mit A wurde in einer Lösung, die 2,5% Citronensäure und 15% Salzsäure enthielt, bei verschiedenen Konzentrationsverhältnissen durchgeführt; gute Ergebnisse wurden bei Ta:Zr = 1:50 erzielt.

¹ Int. J. appl. Radiat. 7, 169–181 (1960). Akad. Wiss. UdSSR.

LISELOTT JOHANNSEN

Über die Elektronen- und Kern-Resonanzspektroskopie gibt G. T. WALKER¹ einen Überblick. Er behandelt an Hand von Literaturzitate die Grundlagen und die Möglichkeiten zur Anwendung dieser Analysenmethode in der *kosmetischen Chemie*.

¹ Seife, Öle, Fette, Wachse 86, 87—89 (1960).

S. PRAKASH

Ein Präzisions-Absorptionsmeter für die Atom-Absorptionsspektralanalyse. H. V. MALMSTADT und W. E. CHAMBERS¹ beschreiben ein Gerät zur spektrochemischen Analyse von Na und K. Die Substitutionsmethode der Colorimetrie zusammen mit der Nullpunkt-Potentiometrie nach H. V. MALMSTADT und J. D. WINEFORDNER² ist das Arbeitsprinzip dieses Gerätes, wobei die Absorption einer monochromatischen Strahlung durch flammenangeregte Atome zur Messung gebracht wird. Ein Vergleich der Absorption einer Probe unbekannter Konzentration mit Standardlösungen, deren Konzentration kontinuierlich geändert wird, ermöglicht die Bestimmung von 1—100 ppm Na oder K mit einer Schwankung von 0,5%. Ausführliche Angaben über die Konstruktionsdaten und Arbeitsweise des Gerätes werden im Original gemacht. Die Reproduzierbarkeit der Messungen, Herstellung von Reagentien, auftauchende Störungen und nötige Wartung werden diskutiert.

¹ Analyt. Chemistry 32, 225—232 (1960). Univ. Urbana, Ill. (USA). — ² Anal. chim. Acta (Amsterdam) 20, 283 (1959); vgl. diese Z. 172, 296 (1960).

S. PRAKASH

Einen zusammenfassenden Bericht über den derzeitigen Stand der Zonenschmelztechnik gibt E. F. G. HERINGTON¹. Die 46 Literaturzitate seiner Übersicht reichen bis einschließlich 1959. Die besondere analytische Bedeutung wird in der Möglichkeit gesehen, durch „zone levelling“ völlig homogen zusammengesetzte, hochreine Standardproben herzustellen, die eine exakte Eichung neuer Analysenverfahren ermöglichen. Der Bericht enthält eine einfache thermodynamische Betrachtung der für das Zonenschmelzen wichtigen Größen sowie eine Reihe ausgewählter Anwendungsbeispiele.

¹ Analyst 84, 680—689 (1959). National Chem. Lab., Teddington, Middlesex (England).

S. ECKHARD

Das Schema für die qualitative Analyse von Anionen¹ haben I. K. TAIMNI und M. LAL² für den Nachweis der häufiger vorkommenden Anionen einschließlich $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, F^- , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, SO_3^{2-} , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, AsO_3^{3-} , AsO_4^{3-} , PO_4^{3-} , BO_3^{3-} , CH_3COO^- , NO_3^- , NO_2^- , S^{2-} , $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$, Cl^- , Br^- , J^- und $[\text{IO}_3]^-$, weiter vereinfacht. Die Verf. geben im Original in tabellarischen Übersichten ihre Arbeitsweise zum Nachweis der Anionen im Sodaauszug bekannt.

¹ TAIMNI, I. K., u. M. LAL: Anal. chim. Acta (Amsterdam) 17, 367, 372 (1957); vgl. diese Z. 162, 375 (1958); 173, 160 (1960). — Ähnliche Arbeiten vgl. diese Z. 162, 204 (1958); 167, 56 (1959); 169, 38, 152 (1959); 170, 440 (1959). — ² Anal. chim. Acta (Amsterdam) 22, 311—314 (1960). Univ. Allahabad (Indien).

KLAUS BRODERSEN

Die Beständigkeitskonstanten der Komplexe einer Anzahl zweiwertiger Metalle mit Cyclohexandiamintetraessigsäure (CyDTA), Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Äthylenglykol-bis-(β -aminäthyläther)-N,N'-tetraessigsäure (ÄGTA), Äthylätherdiamintetraessigsäure (ÄÄDTA) und N-Hydroxyäthyläthylendiamintetraessigsäure (HÄDTA) wurden von J. H. HOLLOWAY und CH. N. REILLEY¹ durch potentiometrische Titration bestimmt. Ebenso wurde die Komplexverbindung zwischen Lanthan und DTPA untersucht. Verwendet wurden 0,001 m, in manchen

Fällen auch 0,01 m Lösungen der Metallnitratre und der Chelate. Um die Ionenkonzentration konstant zu halten, wurde in 0,1 m KNO_3 -Lösung gearbeitet. Die Messungen wurden unter Stickstoff und unter magnetischem Rühren bei $25 \pm 0,02^\circ\text{C}$ mit einer gesätt. Kalomelektrode vorgenommen. Die Brücke wurde mit einem Agargel, welches mit KCl gesättigt war, verschlossen, wodurch die Diffusion der Chlorionen verhindert wurde. Als $\log K$ -Werte wurden gefunden: Mit HÄDTA für Hg^{2+} 20,1; Zn 14,5; Pb 15,5; Mg 7,0; Sr 6,8; Ba 6,2. Mit CyDTA für Hg^{2+} 24,4; Ni 19,4; Zn 18,6; Ca 12,3; Sr 10,0. Mit ÄGTA für Hg^{2+} 23,8; Cu^{2+} 17,8; Ni 13,6; Co 12,3; Zn 14,5; Cd 16,7; Mn^{2+} 12,3; Pb 14,6; Ca 10,9. Mit ÄÄDTA für Hg^{2+} 23,1; Ni und Co 14,7; Zn 15,3; Pb 14,4; Sr 8,6; Mit DTPA für Hg^{2+} 27,0; Zn 18,8; Cd 19,0; Mn 15,5; Pb 18,6; Ca 10,7; La 19,1. Die Reaktionsfähigkeit der Chelatliganden mit einem Metallion bei verschiedenen pH -Werten wird durch die „effektive“ Beständigkeitskonstante angegeben, die sich nach der Gleichung $K_{\text{eff}} = \log K_{\text{McZ}} - \log \alpha_H$ errechnet.

¹ *Analyt. Chemistry* **32**, 249—256 (1960). Univ. Chapel Hill, N. C. (USA).

G. DENK

Die Löslichkeit von Metallkomplexen halogenierter S-Mercaptochinolinderivate in organischen Lösungsmitteln untersuchen JU. A. BANKOVSKY und E. F. LOBANOVA¹. Die Löslichkeit der Komplexe hängt von der Stellung des Halogenatoms im Reagensmolekül ab. Komplexe der 3- und 5-Halogenderivate sind leichter löslich als die Komplexe des unsubstituierten Moleküls. Substitution am C-Atom 6 führt zu einer beträchtlichen Abnahme der Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln. Die Löslichkeit der Komplexe sowohl der unsubstituierten Reagenses als auch seiner Halogenderivate steigt mit zunehmender Polarität des Lösungsmittels.

¹ *Ž. anal. Chim.* **14**, 523—528 (1959) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.)

H. WUNDERLICH

Den Einfluß der Erhitzungszeit und -temperatur auf die Löslichkeit von Chromphosphat, Nickelchromit, Chromarsenat, Kobaltwolframat, sowie Kobalt-, Nickel- und Mangan-antimonat haben I. K. TAIMNI und J. S. AHUJA¹ in Fortsetzung ihrer Untersuchungen über unlösliche Substanzen bei qualitativen Analysen² untersucht. Für jede Verbindung stellen die Verf. einen kritischen Temperaturbereich fest, unter dem die Proben vollkommen löslich bleiben. Weiteres und längeres Erhitzen hat stärkere Herabsetzung der Löslichkeit zur Folge.

¹ *Anal. chim. Acta* (Amsterdam) **22**, 128—129 (1960). Univ. Allahabad (Indien). — ² I. K. TAIMNI u. J. S. AHUJA. *Anal. chim. Acta* (Amsterdam) **19**, 492 (1958); **20**, 119; **21**, 3 (1959); vgl. diese Z. **169**, 38 (1959); **173**, 160 (1960).

KLAUS BRODERSEN

Zum Einschmelzen sauerstoff- oder feuchtigkeitsempfindlicher Proben in Capillaren benutzen A. F. WILLIAMS und T. O. PARK¹ eine Handschuhkammer, die mit Stickstoff gespült wird. Zum Einführen der Probe und Herausnehmen der fertig zugeschmolzenen Röhren befindet sich an der Seite ein kleines Loch, das mit einem Stopfen verschlossen wird. Die Capillare wird in einem elektrischen Vorerhitzer mit dem abgeschmolzenen Ende auf 200°C erhitzt und mit dem offenen Ende in die Probe getaucht. Dann wird über das geschlossene Ende des Röhrens eine gekühlte Messingkappe gesteckt, so daß ein Teil der Probe durch die plötzliche Abkühlung in die Capillare gesogen wird. Anschließend schmelzt man elektrisch an einer Pt-Wendel bei 1000°C ab. Die Messingkappe steckt vor Benutzung auf einem in die Kammer ragenden Al-Stab, der von außen mit Trockenis-Aceton-Mischung auf -60°C gekühlt wird. Die Kammer muß vor Gebrauch 10 Wochen mit Stickstoff gespült werden. Erst dann ist gewährleistet, daß der

Feuchtigkeitsgehalt so weit abgesunken ist, daß der Taupunkt unter -60°C liegt. Sonst würde sich die noch vorhandene Feuchtigkeit an dem kalten Al-Stab kondensieren.

¹ Analyst **85**, 126—130 (1960). Imp. Chem. Ind. Ltd., Nobel Div., Stevenston Ayrshire (Schottland).
MARGOT ZIMMERMANN

Die Löslichkeit von Tributylphosphinoxid (TBPO) in Wasser und umgekehrt von Wasser in TBPO zwischen 13 und 99°C bestimmen C. E. HIGGINS und W. H. BALDWIN¹ durch refraktometrische Messung bei 25°C . Ebenso wird der Verteilungsgrad von TBPO zwischen Wasser und CCl_4 in Abhängigkeit von der Konzentration an TBPO ermittelt. Bei den Versuchen über 25°C bleibt die Mischung aus Wasser und TBPO über Nacht bei der gewünschten Temperatur stehen. Dann wird die klare wäßrige Schicht abgetrennt, im Thermostaten auf $25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und im Abbe-Refraktometer gemessen. Bei den Gleichgewichtseinstellungen unter 25°C werden die Lösungen vor der Messung bei 25°C verdünnt, da die Löslichkeit von TBPO unter 25°C größer ist. Ähnlich wird bei der Bestimmung der Löslichkeit von Wasser in TBPO verfahren. Während beide Substanzen bei 13°C noch vollständig miteinander mischbar sind, enthält bei $13,2^{\circ}\text{C}$ 1 kg Lösung 226 g TBPO und bei 99°C nur noch $9,4\text{ g}$. Entsprechend nimmt die Löslichkeit von Wasser in TBPO von 644 g auf 182 g je kg Lösung ab. — Zur Bestimmung des Verteilungsgrades von TBPO zwischen CCl_4 und Wasser bei 25°C werden verschieden konzentrierte Lösungen von TBPO in CCl_4 mit Wasser ins Gleichgewicht gebracht. Der Verteilungsgrad $E = \text{Gramm TBPO im Liter CCl}_4/\text{g TBPO im Liter H}_2\text{O}$ ist von der Konzentration an TBPO in der CCl_4 -Schicht abhängig. Er beträgt bei 440 g TBPO im Liter CCl_4 $22,2$, bei $4,06\text{ g}$ nur $5,4$. Im gleichen Sinne fällt das in die organische Schicht übergehende Wasser von $2,30\text{ Mol H}_2\text{O}$ je Mol TBPO auf $0,32\text{ Mol H}_2\text{O}/\text{Mol TBPO}$.

¹ Analyt. Chemistry **32**, 233—236 (1960). Oak Ridge Nat. Lab., Tenn. (USA).

G. DENK

Die Temperatursteigerungen, die beim Zentrifugieren auftreten können, werden von C. E. HIGGINS und W. H. BALDWIN¹ an den wäßrigen Lösungen von Tributylphosphat (TBP) und Tributylphosphinoxid (TBPO) untersucht. Die bei $25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ gesätt. Lösungen von TBP (417 mg/l) und TBPO ($55,4\text{ g/l}$) wurden mit verschiedener Geschwindigkeit zentrifugiert. Die Raumtemperatur betrug $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Die Temperatursteigerung ist stark von der Art der Zentrifuge abhängig, ein Zeichen dafür, daß sie hauptsächlich von der Motorwärme herrührt. Sie betrug im extremsten Fall bei geschlossener Zentrifuge 14°C nach 2 Std. , bei offenem Deckel dagegen weniger als 1°C . Auch die Rotationsgeschwindigkeit beeinflusst die Temperatur; bei 600 U/min wurde nach 2 Std. eine Erwärmung um 6°C , bei 2600 U/min von $11,7^{\circ}\text{C}$ beobachtet. Das Volumen der Lösung hat nur einen geringen Einfluß, doch erwärmen sich größere Mengen deutlich langsamer. — Durch diese teils recht beträchtliche Erwärmung wird die Löslichkeit der Substanzen verändert, was zu analytischen Fehlern führen kann. Umgekehrt kann die Erscheinung zur raschen Bestimmung der Löslichkeit solcher Substanzen verwendet werden, die mit steigender Temperatur weniger löslich werden, da sich die ausgeschiedenen Verbindungen durch die Zentrifugalkraft rasch absetzen. Das Verfahren wurde mit TBPO erprobt. Die bei 25°C gesätt. Lösungen wurden zentrifugiert und dabei gleichzeitig mit einer Infrarotlampe geheizt. Die zwischen 27 und 55°C im Laufe von nur einigen Stunden aufgenommene Löslichkeitskurve stimmt innerhalb $\pm 2\%$ mit der in der vorhergehenden Arbeit² aufgestellten überein.

¹ Analyt. Chemistry **32**, 236—238 (1960). Oak Ridge Nat. Lab., Tenn. (USA). —

² Analyt. Chemistry **32**, 233 (1960); Vgl. das vorstehende Referat. G. DENK

Die Anwendung von Zirkoniumtiegeln für Peroxydschmelzen, von G. M. PETRETTI¹ und J. I. DINNIN² vorgeschlagen, ist nach einer Mitteilung von R. P. ANIBAL³ in vielen Fällen zu empfehlen, doch ergeben sich manchmal Fehlresultate. Bei der Untersuchung von Chromerzen oder Chromlegierungen z. B. fallen die Werte zu niedrig aus, wenn man die Schmelze wie üblich in Wasser löst, die Lösung ansäuert und das Chromat mit Eisen(II)-salzlösung titriert. Die Fehler werden nach den Versuchen des Verf. dadurch verursacht, daß Zirkonium ein im alkalischen Medium stabiles Peroxyd bildet, das beim Ansäuern eine gewisse Menge Chromat reduziert. Abhilfe kann geschaffen werden, indem man nach dem Ansäuern nochmals mit Persulfat-Silbernitrat oxydiert oder indem man vor dem Ansäuern filtriert. Die Werte sind im letzten Fall nur noch um 0,1–0,2% zu niedrig, also für Betriebsanalysen ausreichend genau. — Auch bei der Phosphor- und/oder Schwefelbestimmung⁴ können im Zirkoniumtiegel im Gegensatz zum Eisentiegel zu niedrige Werte erhalten werden.

¹ Analyt. Chemistry **23**, 1183 (1951). — ² U.S. Geol. Survey Bull. **1084** B, 37 (1959). — ³ Analyt. Chemistry (Easton, Pa.) **32**, 293 (1960). Strategie-Udy Processes, Inc., Niagara Falls, N. Y. (USA). — ⁴ HILLEBRAND, W. F., G. E. F. LUNDALL, M. S. BRIGHT u. J. I. HOFFMAN: Applied Inorganic Analysis, 2nd. Ed. p. 697. Wiley, New York 1953. A. KURTENACKER

Eine verbesserte galvanische Mikrozelle¹ für die Gas- und Wasserdampfbestimmung beschreibt A. BERTON². Dabei fließt eine Flüssigkeit zwischen 2 Elektroden hindurch (Abb. 1). Mit einer *Kupferoxyd- und einer Blei-Elektrode*

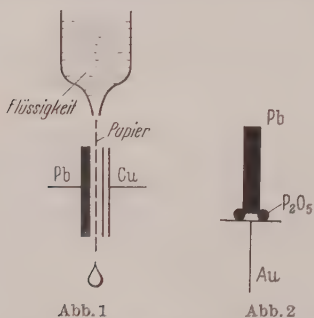


Abb. 1. Galvanische Mikrozelle für Gas- und Wasserdampfbestimmung nach BERTON mit Hilfe von destilliertem Wasser

Abb. 2. Modifizierte galvanische Zelle unter Verwendung von P₂O₅ nach BERTON

und dest. Wasser kann man mittels dieser ganz einfachen Apparatur, die direkt an ein sehr empfindliches Galvanometer angeschlossen ist, fortgesetzt verschiedene Substanzen im Dampfzustand quantitativ bestimmen, vor allem solche, die eine saure oder alkalische Reaktion geben. Zum Beispiel kann man *Schwefeldioxyd in Luft* bei Gehalten über 1 ml/m³ bestimmen und verhindern, daß die zulässige toxikologische Toleranz von 5 ppm überschritten wird. — Bei Verwendung einer *Gold- und einer Blei-Elektrode und Phosphorpentoxyd* (Abb. 2) an Stelle der Zwischenflüssigkeit kann die Mikrozelle zur *Bestimmung von Wasserdampf* dienen. Um den Wassergehalt von *Gasen oder Dämpfen* quantitativ zu bestimmen, läßt man mittels eines Dreiweghahnes zuerst trockene Luft und dann das Gas oder den Dampf passieren. Die absolute Empfindlichkeit beträgt einige Tausendstel Milligramm/Liter Luft. — Unter Verwendung eines *Bleioxyd/Blei-Elektrodenpaares* und von konz. *Schwefelsäure* als Zwischenflüssigkeit kann man auch *nichtionisierte Substanzen* mit der Mikrozelle bestimmen. Eine solche Zelle muß vorher wie ein Akkumulator aufgeladen werden. Sie ist dann sehr empfindlich für *Nitrobenzol, Pyridin*, weniger für *gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe* und kaum für *Säuredämpfe*. Diese Mikrozellen können auch aus flüssigen Elektroden zusammengesetzt sein. Außerdem können sie wie *photosensible Empfänger* für bestimmte Wellenlängen angewendet werden.

¹ Siehe dazu BERTON, A.: Chim. analytique **41**, 351 (1959); vgl. diese Z. **175**, 288 (1960). — ² Bull. Soc. chim France. **1959**, 1453–1454. LISELOTT JOHANNSEN

Ein Photometer für die fortlaufende Uranbestimmung in radioaktiven Strömen beschreiben F. A. SCOTT und R. D. DIERKS¹. Die Uranylнитrat-Konzentrationen in radioaktiven Prozessen können colorimetrisch überwacht werden. Die üblichen Photometer sind für hochradioaktive Ströme nicht geeignet. Das neu entwickelte Instrument ist ein modifiziertes Einstrahl-Filter-Photometer. Es verwendet eine einzige Lichtbahn und einen einzigen Lichtintensitäts-Detektor und hat 2 Filtersysteme. Die Intensität der Lichtquelle stellt sich automatisch so ein, daß das sichtbare, auf eine Probelösung einfallende Licht konstant bleibt, was durch die Intensität des transmittierten Lichtstrahls bei 535 nm angezeigt wird. Die Urankonzentration der Probelösung kann direkt durch die Intensität des transmittierten Lichtstrahls bei 420 nm abgelesen werden. Die Gefahr der radioaktiven Schädigung des Laboratoriumspersonals wird dadurch bedeutend verringert, daß die elektronische Ausrüstung außerhalb der Strahlungsbereiche liegt und die ganze Apparatur verkleinert und vereinfacht ist. Es können mit diesem Photometer Lösungen, die 300–450 g Uran/l enthalten, gemessen werden. Die Standardabweichung beträgt 3 g U/l entsprechend 1% der Urankonzentration. Die Temperaturabhängigkeit des Photometers ist nicht untersucht worden. Doch zeigt die Eichkurve für 0–140 g Uran/l bei 18° C eine um 4% höhere Urankonzentration als die bei 43° C.

¹ Analyt. Chemistry 32, 268–272 (1960). Hanford Labs., General Electrics Co., Richland, Wash. (USA).
LISELOTT JOHANNSEN

Automatisch kontinuierlich arbeitender coulometrischer Titrator und seine Anwendung auf acidimetrische Titrationsen. A. TAKAHASHI¹ hat einen coulometrischen Titrator und dessen Anwendung bei *Titration von Schwefelsäure* beschrieben. Die zu analysierende Lösung und der Elektrolyt (zur elektrolytischen Erzeugung von Base) werden mit durch Synchronmotor betriebene Pumpen mit konstanter Strömungsgeschwindigkeit in die Titrationszelle gepumpt. Die Generatorelektrode ist in den Zufluß der Elektrolytlösung eingebaut. Der Elektrolysestrom wird automatisch durch ein elektronisches Kompensationssystem so geregelt, daß das Gemisch in der Titrationszelle neutral, also im Äquivalenzpunkt gehalten wird. Der Stromfluß wird zugleich registriert. Auch eine automatische Temperaturskompensation wird angegeben, die Korrektur bei Frequenzschwankungen wird erörtert. Die Titrationsergebnisse an Schwefelsäure sind vom Natriumsulfatgehalt unabhängig. Einzelheiten müssen dem japanischen Original entnommen werden.

A. TAKAHASHI¹ hat in einer weiteren Mitteilung über eingehende Untersuchungen zu den charakteristischen Abhängigkeiten der Arbeitsweise des früher beschriebenen *kontinuierlich und automatisch arbeitenden coulometrischen Titrators*² berichtet und insbesondere die Bedingungen für ausreichend stabile Anzeige des Geräts behandelt. Als wesentlich bestimmende Faktoren werden die Geschwindigkeit der Änderung des Elektrolysestromes, das Volumen im Raum der Indicatorelektrode, die Strömungsgeschwindigkeit der Probelösung und die der Elektrolytlösung festgestellt. Stabilste Anzeigen werden speziell bei hohem Durchfluß der Lösung erhalten. Die experimentellen Ergebnisse stehen in Einklang mit theoretischen Betrachtungen.

¹ Jap. Analyst. 8, 661–666 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.)
Denkishiki Kagaku Keiki Kenkyujo (Japan). — ² Jap. Analyst 9, 42–48 (1960)
[Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.)
K. CRUSE

III. Analyse organischer Stoffe

1. Elementaranalyse

Das Verfahren zur Bestimmung von Stickstoff durch Zersetzung der Probestanz mit einem Gemisch aus konzentrierter Phosphorsäure und Jodsäure wird von T. TAKAGI und I. YANAGIDA¹ auf die *Analyse von Calciumcyanamid* ausgedehnt, wobei etwas anders gearbeitet werden muß, da bei der Reaktion auch Acetylen entsteht. Die Analyse kann in 25 min ausgeführt werden, die Werte stimmen mit den nach der Kjeldahl-Methode erhaltenen überein.

¹ Jap. Analyst 9, 29—33 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Kanazawa Univ. (Japan). G. DENK

Eine Methode zur Mikrobestimmung von Halogen in organischen Verbindungen gibt F. W. CHENG¹ an. Hierbei wird die organische Substanz nach SCHÖNIGER² aufgeschlossen und das entstehende Halogenid mercurimetrisch titriert. — *Ausführung.* 1—1,5 mg der Substanz werden nach SCHÖNIGER² aufgeschlossen, wobei als Absorbens eine Mischung von 1 ml 0,5 n Natronlauge und 15 ml 6%iger Lösung von Wasserstoffperoxyd dient. Nach dem Aufschluß werden Platinhalter und Wände des Aufschlußgefäßes mit 10 ml Wasser abgespült und 5 min zur Entfernung des Wasserstoffperoxyds gekocht. Nach dem Abkühlenlassen werden 80—100 ml Alkohol zugefügt. Man gibt nun 5 Tr. 0,05%ige alkoholische Lösung von Bromphenolblau zu und neutralisiert zuerst mit 0,5 n und gegen Ende mit 0,05 n Salpetersäure. Mit 1 ml 0,05 n Salpetersäure wird auf pH 3,5 gebracht. Nun gibt man 15 Tr. einer 0,5%igen Lösung von Diphenylcarbazon zu und titriert mit Quecksilbernitratlösung bis zum Farbumschlag von Bläßgelb nach Kirschrot. Die Quecksilbernitratlösung wird durch Auflösen von 3 g Quecksilbernitratlösung in 500 ml 0,01 n Salpetersäure und Auffüllen auf 1 l hergestellt und soll pH 1,66 haben. — Die Abweichungen von den berechneten Halogenprozentgehalten betragen 0,28% (Br) bzw. 0,31% (Cl).

¹ Microchem. J. 3, 537—542 (1959). Atlas Powder Co., Wilmington, Del. (USA). — ² SCHÖNIGER, W.: Mikrochim. Acta 1956, 869; vgl. diese Z. 154, 158 (1957). E. BAYER

2. Qualitative und quantitative Analyse

Über die Farbreaktion von organischen Verbindungen mit Pentacyano-eisen-Komplexsalzen berichtet S. OHKUMA¹ in 4 aufeinanderfolgenden Mitteilungen. — 1. *Papierchromatographie.* Zur Trennung von Komplexsalzen, welche aus Natriumnitroprussiat und Natriumpentacyanoamminferat gebildet werden, eignen sich am besten folgende polare Fließmittel: 2 g Natriumhydrogencarbonat-40 ml Ammoniak-60 ml Aceton; 10 g Ammoniumsulfat- 40 ml Ammoniak-60 ml Aceton; 1,5 g Natriumhydrogencarbonat-30 ml Ammoniak-70 ml Methanol; 10 g Ammoniumsulfat-30 ml Ammoniak-70 ml Methanol. — 2. *Papierelektrophorese.* Bei Verwendung von 0,05 n Natriumcarbonat- oder 1%iger Natriumhydrogencarbonatlösung als Elektrolyt wandern die mit Pentacyanoamminferat und Pentacyanoaquoferat gebildeten gefärbten Komplexverbindungen als Anionen. Dieser Vorgang kann zur Trennung und Identifizierung von organischen Verbindungen herangezogen werden. Nitroprussiatnatrium ist als Komplexbildner ungeeignet da die resultierenden Verbindungen nicht stabil genug sind. — 3. *Absorptionsspektren, der Pentacyano-eisen-Komplexsalze mit aromatischen primären Aminen als Liganden.* Natriumpentacyanoamminferat und primäre aromatische Amine reagieren im Verhältnis 1:1. Die Umsetzungsprodukte weisen im Bereich von 620—735 nm Absorptionsmaxima auf, die zur Unterscheidung von isomeren Aminophenolen,

Phenylendiaminen, *Naphthylaminen* und *Chloranilinen* benutzt werden können. Die Reaktionslösungen mit *4-Aminophenol*, *2,4-Diaminophenol*, *5-Aminosalicylsäure* und *1,4-Aminonaphthol* sind sehr intensiv gefärbt und stabil mit Absorptionsmaxima zwischen 690 und 710 nm. Elektronen abgebende Gruppen (OH, NH₂, CH₃) bewirken hyperchrome Effekte, während Elektronen anziehende Gruppen (NO₂, COOH, CH₃CO, Cl) Hypochromie hervorrufen. OH in para-Stellung, NH₂ in ortho-Stellung und Elektronen anziehende Gruppen bewirken bathochrome Effekte. — *4. Mechanismus der Farbreaktion mit Phenolen*. Die blauen oder grünen Pigmente, welche bei der Reaktion mit Phenolen entstehen, wurden papierchromatographisch und papierelektrophoretisch untersucht. Phenole mit Elektronen abgebenden Gruppen können sowohl ein organisches Pigment als auch ein komplexes Anion bilden, während Phenole mit elektronegativen Gruppen nur ein relativ instabiles komplexes Anion bilden.

¹ J. pharmac. Soc. Japan **79**, 1582—1585, 1586—1590, 1590—1595, 1596—1600 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Kyoto (Japan).

H. GARSCHAGEN

Schwefel enthaltende organische Verbindungen mit den Gruppierungen CS, S-S, NCS, SCN bestimmt M. WRÓŃSKI¹ durch Umsetzung mit *o-Hydroxymercuribenzoessäure* (abgekürzt OHMB). In alkalischem Medium werden die Sulfidkomplexe gebildet und die überschüssige OHMB mit Thioglykolsäure zurücktitriert: Bis 10 mg der CS-, SS-, NCS- oder SCN-Gruppen enthaltenden Substanzen in alkoholischer oder wäßriger Lösung werden in einem Erlenmeyer-Kolben mit 5 ml 1 n Natronlauge und 20 ml 0,03 n OHMB versetzt und 5 min zum Sieden erhitzt. Bei flüchtigen Verbindungen wird nach Zufügen von 10 ml Alkohol am Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt. Nach Zusatz von 10 ml einer 0,02%igen Lösung von Thiofluorescein in verd. Ammoniak wird mit Thioglykolsäure bis zur bleibenden blauen Farbe titriert. Die Thioglykolsäurelösung wird durch Auflösen von 5 g Thioglykolsäure und 20 g Natriumsulfit in insgesamt 1 l 0,2 n Ammoniaklösung hergestellt. — An Stelle der Titration mit Thioglykolsäure kann auch folgendes Verfahren angewandt werden: Man fügt 5 ml Natriumsulfitlösung zu, die durch Lösen von 6 g Natriumsulfitdihydrat und 20 g Natriumsulfit in insgesamt 1 l 0,2 n Ammoniak erhalten wird. Nachdem 0,5 ml Dithizonlösung zugegeben worden sind, wird mit OHMB bis zum Farbumschlag Gelb-Purpurrot titriert. In einer getrennten Bestimmung wird der Verbrauch an OHMB durch das Natriumsulfit bestimmt und vom oben erhaltenen Wert abgezogen. Die Methode ist bei *Rubeanwasserstoff*, *Rhodanin*, *Cystin*, *organischen* und *anorganischen Polysulfiden* sowie *organischen Thiocyanaten* angewandt worden. Auch *Wolle* kann auf diese Weise bestimmt werden: Hierzu werden bis 180 mg bei 105 °C getrocknete Wolle mit 10 ml 0,04 n OHMB, 5 ml 1 n Natronlauge und 25 ml Wasser 15 min zum Sieden erhitzt und mit Thioglykolsäure wie oben zurücktitriert.

¹ Analyt. Chemistry **32**, 133—134 (1960). Univ. Łódź (Polen).

E. BAYER

Zur Trennung von primären, sekundären und tertiären aliphatischen Monoaminen, aliphatischen Diaminen, Äthanolaminen, Ammonium- und Tetraalkylammoniumsalzen sowie von Piperazin und Derivaten verwendet D. GROSS¹ die Hochspannungspapierelektrophorese (100–160 V/cm). Die unter sorgfältiger Kontrolle von Druck und Temperatur in einer früher beschriebenen Anordnung² vorgenommenen Trennungen sind scharf und vollständig.

¹ Nature (London) **184**, Suppl. 21, 1633—1634 (1959). Tate and Lyle Ltd., Keston, Kent (England). — ² BELL, D. J., W. M. McINDOE u. D. GROSS: Biochemic. J. **71**, 355 (1959).

H. HARTKAMP

Die Trennung und Identifizierung von niederen Fettsäuren C_1-C_6 kann nach M. JUREČEK, J. CHURÁČEK und V. ČERVINKA¹ nach Überführung in die 2,4-Dinitrobenzylester papierchromatographisch vorgenommen werden. Verff. arbeiten absteigend auf mit Formamid imprägniertem Papier und Cyclohexan-Benzol (25:1) als Lösungsmittel. Zum Nachweis dient eine Natriumäthoxydlösung in Aceton. Isomere Säuren können nicht getrennt werden. — Man erhält folgende R_f -Werte: Ameisensäure 0,00; Essigsäure 0,13; Propionsäure 0,34; Buttersäure 0,56; Isobuttersäure 0,58; Valeriansäure 0,73; Isovaleriansäure 0,73; Capronsäure 0,81; 2,4-Dinitrobenzylbromid 0,35. Die Ameisensäure bleibt am Start. Zu ihrem sicheren Nachweis muß, da auch andere Komponenten einer unbekannten Mischung sich ebenso verhalten können, eine weitere Trennung auf mit Petroleum (KP 190 bis 220° C) getränktem Papier mit 65% igem Alkohol als Lösungsmittel vorgenommen werden (12–14 Std). In diesem System wird nur die Ameisensäure abgetrennt, die homologen Säuren bilden einen langgezogenen Fleck. Die R_f -Werte des Reagenses 2,4-Dinitrobenzylbromid und des Propionsäureesters sind fast gleich. Der Nachweis der Propionsäure kann deshalb in Anwesenheit des Reagenses nicht geführt werden. — *Ausführung. Darstellung der Ester.* Von der zu untersuchenden Lösung der Fettsäuren gießt man etwa $\frac{1}{10}$ ab, neutralisiert den Rest mit Natronlauge gegen Phenolphthalein, dampft zur Trockne ein, gibt den zurückgehaltenen Anteil zu und bringt wieder zur Trockne. Dies Salzgemisch löst man in der Wärme in einem Gemisch aus Benzol, Äthanol und Wasser (9:16:2) und versetzt mit der benötigten Menge 2,4-Dinitrobenzylbromid (berechnet aus dem Laugenverbrauch bei der Neutralisation auf die höchste Fettsäure) und erhitzt das Gemisch in einer zugeschmolzenen Ampulle 1 Std im kochenden Wasserbad. Danach wird die Ampulle unter fließendem Wasser abgekühlt, geöffnet und der Inhalt mit Alkohol in ein Reagensglas gespült. Man erhitzt mit Aktivkohle, filtriert, dampft das Lösungsmittel bei 100° C ab, nimmt den Rückstand in Benzol auf, gießt von den NaBr-Kristallen ab und verdünnt auf etwa 0,01 m Lösung. — *Chromatographie.* Auf Whatman-Papier Nr. 1, das mit 25% iger alkoholischer Formamidlösung getränkt und 15 min an der Luft getrocknet worden ist, werden 2–6 μ l der benzolischen Lösung sowie der Lösung eines bekannten Estergemisches aufgetragen. Man hängt das Chromatogramm 30 min zur Äquilibration in die Kammer und trennt dann mit Cyclohexan-Benzol (25:1) 1–1,5 Std. Dann besprüht man auf beiden Seiten mit einer frisch hergestellten Mischung aus 1 Teil gesätt. alkoholischer Natriumäthoxydlösung und 3 Teilen Aceton, die mit Äthanol bis zur Klärung versetzt worden ist. Es entstehen grüne Flecke, die in tiefes Braun übergehen. — Die vorgeschlagene Methode ist in 3–3,5 Std durchführbar. Es können noch 1 μ g der einzelnen Säuren nachgewiesen werden. Die Empfindlichkeit dieses Nachweises ist 4mal so groß wie bei der Hydroxamsäuremethode und 50mal so groß wie beim acido-basischen Nachweis der Salze. Das Verfahren ist besonders geeignet für die Analyse von verd. wäßrigen Lösungen von Fettsäuren, wie sie etwa bei der Wasserdampfdestillation hydrolytisch oder oxydativ abgebauter Naturstoffe oder synthetischer Produkte anfallen.

¹ Mikrochim. Acta (Wien) 1960, 102–112. Chem.-techn. Hochschule, Pardubice (ČSR).

MARGOT ZIMMERMANN

Essigsäuregehalte von 0 bis 10% in Essigsäureanhydrid bestimmen J. E. FERNANDEZ, R. T. MCPHERSON, G. K. FINCH und C. D. BOCKMAN¹ quantitativ im nahen Infrarot. Grundlage des Verfahrens ist die Messung der Bande der intermolekulargelassenen Hydroxylgruppe von 2 oder höher assoziierten Essigsäuremolekeln bei 1,505 μ . Gemessen wird in 1 cm-Küvetten gegen luftgefüllte Vergleichsküvetten. Das Beersche Gesetz ist in dem angegebenen Konzentrationsbereich nicht erfüllt. In der Eichgeraden wird die Durchlässigkeit, nicht die

Extinktion gegen den Prozentgehalt aufgetragen; die Werte der Eichgeraden sind aber streng reproduzierbar. Die Standardabweichung des Verfahrens beträgt 0,16; sie ist niedriger als die der Anilinmethode (0,40) bzw. der Triäthylaminmethode (0,21). Bei höheren Essigsäuregehalten als 10% treten größere Abweichungen auf, die von den Verff. noch nicht gedeutet werden können. Die Arbeit enthält weiterhin die IR-Spektren von Essigsäure und Essigsäureanhydrid von 0,6–2 μ und sehr ausführliche Betrachtungen über die statistische Auswertung der Analyseergebnisse.

¹ Analyt. Chemistry **32**, 158–162 (1960). Tennessee Eastman Co., Kingsport, Tenn. (USA). H. SPECKER

Methylenlactone. M. HORÁK und J. PLÍVA¹ beschreiben die charakteristischen IR-Banden von fünfgliedrigen Lactonen, die in Konjugation zur C = O-Gruppe eine Methylendoppelbindung =CH₂ enthalten. Danach wird die Frequenz der =C=O-Doppelbindung um etwa 7 cm⁻¹ längerwellig verschoben. Die Methylendoppelbindung absorbiert bei etwa 1400 cm⁻¹ und die Frequenz der C-O-Bindung wird in konjugierten Lactonen von etwa 1180 cm⁻¹ nach 1126–1150 cm⁻¹ verschoben. Die Banden von einigen in der Natur vorkommenden, konjugierten Methylenlactonen werden angegeben.

¹ Chem. und Ind. **1960**, 102. Akad. Wiss., Prag (ČSR).

E. BAYER

Zum Nachweis der Glyoxylsäure in Gegenwart einiger Monosaccharide oder organischer Säuren verwenden A. M. PACHOMOV, V. M. PROSTJAKOVA und V. I. IVANOV¹ das papierchromatographische Verfahren. Es werden Äthylacetat-Pyridin-Wasser (5:1:5), n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) und Benzol-n-Butanol-Pyridin-Wasser (1:5:3:3) als Lösungsmittel untersucht und folgende R_F-Werte ermittelt: Glyoxylsäure 0,02; 0,58; 0,26, Glucose 0,3; 0,13; 0,35, Mannose 0,4; 0,19; 0,41, Arabinose 0,47; 0,18; 0,40, Xylose 0,6; 0,21; 0,46. Die Nachweisgrenze beträgt ~ 5 μ g Glyoxylsäure. Zur Trennung der Glyoxylsäure von Oxal-, Wein-, Citronen- und Bernsteinsäure wird Äthylacetat-Pyridin-Wasser (5:1:5) verwendet. Nach einer Laufzeit von 48 Std (absteigende Methode) werden die Chromatogramme im Luftstrom getrocknet, mit butanolischer Anilinphthalatlösung besprüht und auf 100–105°C erhitzt, wonach die Glyoxylsäure als gelber Fleck erscheint. Die anwesenden Hexosen ergeben braune und Pentosen rötliche Flecken, während die untersuchten organischen Säuren mit der angewandten Indicatorlösung nicht reagieren.

¹ Izv. Akad. Nauk SSSR, Otd. Chim., **1959**, 1339 [Russisch]. Zelinskij-Inst. org. Chem., Akad. Wiss. UdSSR. DAMJANA VUKANOVIĆ

Papierchromatographische Trennung von Citronen- und Isocitronensäure. Während seither die Trennung von Citronensäure und Isocitronensäure zeitraubend und schwierig war, berichten jetzt R. POHLOUDEK-FABINI, C. WOLLMANN und H. WOLLMANN¹ über eine einfach durchzuführende papierchromatographische Trennung nach der absteigenden, durchlaufenden Methode. — *Arbeitsweise.* Auf Filterpapier Schl. & Sch. 2043 b mgl (18 × 58 cm, Faserrichtung parallel zur Schmalseite) werden auf der Startlinie, 12 cm von der Schmalseite entfernt, Lösungen von Citronensäure und Isocitronensäure als Testsubstanz, von Weinsäure als Bezugsubstanz und von den zu prüfenden Pflanzenextrakten mehrfach aufgetragen. Die andere Schmalseite wird mit 1 cm tiefen sägeförmigen Einschnitten versehen. Die Kammer wird 16 Std zur Sättigung mit Glasschalen beschickt, die je 10 ml des wassergesätt. Gemisches von Isoamylalkohol-Chloroform-Ameisensäure, 85%ig, (4:1:1, v/v/v) enthalten. An die Kammerwände werden 3 cm breite Streifen geklebt, die mit diesem Gemisch getränkt wurden und mit dem unteren Ende in die Schalen eintauchen. Der Untersuchungsbogen wird ebenfalls zur Sättigung in die

Kammer eingehängt. Nach 16 Std werden die Rinnen für die absteigende Chromatographie gefüllt und 6 Tage chromatographiert, so daß das Lösungsmittel von dem gezähnten Rand abtropfen kann. Nach Trocknung des Chromatogramms über Nacht wird mit Schwegges Reagens (20 g Glucose in 200 ml Wasser gelöst, mit einer Mischung von 20 ml frisch dest. Anilin und 200 ml Äthanol versetzt und mit n-Butanol auf 1000 ml aufgefüllt) besprüht und sofort bei 125° C im Trockenschrank 5–10 min erhitzt. Die Säuren erscheinen als haltbare braune Flecke auf weißem Grund. — Die Pflanzenextrakte erhält man entweder aus frischem Preßsaft, der mit $\frac{1}{10}$ seines Gewichtes mit Wofatit KPS 200, H⁺-Form, versetzt wird und nach 15 min Schütteln abzentrifugiert wird, oder Frischpflanzen werden mit 0,5 ml 4n Schwefelsäure im Mörtel zerkleinert, mit 10 g wasserfreiem Natriumsulfat zur Trockne verrieben und im Soxhlet 2–3 Std mit Aceton extrahiert. Der auf 10 ml eingeeengte Extrakt ist monatelang haltbar. — Eine Isocitronensäurelösung erhält man aus 50 mg DL-Isocitronensäurelaktol, das in 1,5 ml 1n Natronlauge gelöst und mit Wasser auf 5 ml aufgefüllt wird. Darauf wird 60 min bei 40° C im Wasserbad hydrolysiert. Nach Zusatz von 0,5 ml n Ameisensäure und 1,0 g Wofatit KPS 200, H⁺-Form, wird 5 min geschüttelt. Die überstehende Lösung enthält in 0,01 ml 100 µg freie Isocitronensäure. Diese Lösung ist wochenlang haltbar.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) 2, 525–530 (1959). Univ. Greifswald.

B. ROSSMANN

Über Kurzzeitbestimmung carcinogener aromatischer Kohlenwasserstoffe berichten D. HOFFMANN und E. L. WYNDER¹. Es handelt sich um eine Vereinfachung einer im Druck befindlichen Methode der Verff. Der *Analysengang* geht aus folgendem Beispiel hervor: 7,32 g Trockenkondensat aus Zigarettenrauch, die in 40 ml Methanol-Wasser (4:1) gelöst sind, werden 3 mal mit 40 ml Cyclohexan ausgeschüttelt. Der Cyclohexanextrakt (4,73 g) wird 5 mal mit 40 ml Nitromethan ausgeschüttelt und dieser Extrakt (0,82 g) auf eine Säule aus 30 g Silicagel gegeben. Durch Elution mit Hexan erhält man die Fraktionen 1–7 und mit Hexan-Benzol (4:1) die Fraktionen 8–10. Die Trennung ist nicht ganz scharf; die Fraktionen sind nach den Hauptinhaltsstoffen benannt: 1 (keine Fluoreszenz); 2 *Anthracen*, *Phenanthren*; 3 *Pyren*; 4 *Fluoranthren*; 5 *Chrysen*; 6 *Benzopyren*; 7 *Benzo(a)fluoranthren*; 8 *Dibenzo(a,h)anthracen*; 9 und 10 *höhere Polycyclen*. Die Verteilungskoeffizienten in den oben erwähnten Lösungsmitteln sind in einer Tabelle zusammengestellt.

¹ Analyt. Chemistry 32, 295–296 (1960). Sloan-Kettering Inst., New York, N.Y. (USA).
E. MÜLLER, Würzburg

3,5-Dinitro-o-toluamide und verwandte Dinitroverbindungen bestimmt G. N. SMITH¹ spektralphotometrisch an Hand der purpurroten Farbe, die nach Reaktion mit Dimethylformamid und Methylamin entsteht: 1 ml acetonsche Lösung der auf 3,5-Dinitro-o-toluamid zu prüfende Substanz mit einem Gehalt von etwa 500 µg/1 ml wird in einen 50 ml-Meßkolben pipettiert, dann werden 24 ml Dimethylformamid p.a. und 25 ml auf 3–5° C abgekühlte 40% ige, wäßrige Lösung von Methylamin zugegeben. Genau 3 min nach dem Zusatz der Methylaminlösung wird die Extinktion der Reaktionslösung in einer geschlossenen Küvette bei 390 und 550 nm im Beckman-Spektralphotometer gemessen. Mittels unter gleichen Bedingungen erhaltenen Eichkurven kann aus den Extinktionen der Gehalt an 3,5-Dinitro-o-toluamid bestimmt werden. Die beschriebene Methode wurde erst nach sehr eingehendem Studium der Reaktionsbedingungen aufgestellt. Unter den angegebenen Bedingungen wird auch mit 2,4-Dinitrobenzamid und 3,5-Dinitrobenzamid ohne Substituenten zwischen den beiden Nitrogruppen, 3,5-Dinitro-o-toluamiden, 4,6-Dinitro-o-toluamiden und 4,6-Dinitro-m-toluamiden ohne Substituenten zwischen den beiden Nitrogruppen die Farbreaktion erhalten. Da die verschiedenen

Substanzen ein unterschiedliches Verhältnis der Extinktionen bei 390 und 550 nm aufweisen, kann aus den Verhältnissen der Extinktionen auch zwischen den isomeren Toluamiden unterschieden werden.

¹ Analyt. Chemistry **32**, 32–37 (1960). The Dow Chem. Co., Midland, Mich. (USA). E. BAYER

Die Verschiebung der Lichtabsorptionsmaxima von Substanzen mit phenolischen Hydroxylgruppen in verschiedenen Lösungsmitteln, die durch Zusatz von 2% einer 40%igen methanolischen Lösung von N-Benzyl-trimethylammonium-methoxyd alkalisch gemacht worden sind, untersuchen E. SAWICKI, T. R. HAUSER und T. W. STANLEY¹. In Dimethylformamid und Pyridin sind die Lichtabsorptionsmaxima nach längeren Wellenlängen verschoben, in Alkoholen nach kürzeren Wellenlängen. Setzt man dem mit Tetraäthylammoniumhydroxyd alkalisch gemachten Dimethylformamid Wasser zu, werden die Maxima mit steigendem Wassergehalt kurzwelliger. — Es wird darauf hingewiesen, daß die geeignete Auswahl des Lösungsmittels auch bei der *Bestimmung von Aminen* nach C. HANNOT² eine Rolle spielt. So wurden in Dimethylformamid als Lösungsmittel gegenüber Wasser eine Verschiebung des Lichtabsorptionsmaximums von 490 nach 570 nm und eine Erhöhung des molaren Extinktionskoeffizienten von 14000 auf 55600 erhalten. Auch bei der colorimetrischen *Bestimmung von Carbonylverbindungen* durch Reaktion mit Arylhydrazinen³ zu Hydrazonen bewährt sich alkalisches Dimethylformamid besser als Lösungsmittel.

¹ Analyt. Chemistry **31**, 2063–2065 (1959). U. S. Dept. Health, Educat., Welfare, Cincinnati, Ohio (USA). — ² HANNOT, C.: Bull. Soc. chim. Belges **66**, 76 (1957); vgl. diese Z. **159**, 52 (1957/58). — ³ NEUBERG, C., u. E. STRAUSS: Arch. Biochemistry **7**, 211 (1945). E. BAYER

Die elektrophoretische Beweglichkeit sowie die papierchromatographische Trennung von Phenolen hat J. B. PRIDHAM¹ sehr eingehend untersucht. o-Dihydroxybenzole lassen sich sehr gut an ihrer Komplexbildung mit Molybdat

Tabelle 1. Relative, auf o-Hydroxybenzoesäure bezogene elektrophoretische Beweglichkeiten verschiedener Phenole

Verbindung	Acetat-puffer pH = 5,2; 9,2 m	Molybdat-puffer pH = 5,2 8,1 · 10 ⁻³ m	Phosphat pH = 7,2 0,2 m	Borat pH = 10 0,2 m	Glycinpuffer pH = 10,2 0,1 m
Hydrochinon	0	0	0,01		
Brenzcatechin	0	1,07	0,01	0,67	0,51
Resorcin	0	0	0,01	0,35	0,44
Phloroglucin	0	0	0,01	1,27	1,05
Pyrogallol	0	0,98	0,01	0,75	
Hydroxyhydrochinon	0	1,07	1,25	1,20	1,16
3,4-Dihydroxyphenylalanin	0	0,81	0,01	0,72	
o-Hydroxybenzoesäure	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
m-Hydroxybenzoesäure	0,81	0,79	0,85	1,05	0,95
p-Hydroxybenzoesäure	0,64	0,70	0,77	1,21	1,10
Protocatechusäure	0,50	1,00	0,67	1,19	1,02
Gallussäure	0,45	1,03	0,59	1,20	0,93
p-Cumarsäure	0,34	0,44	0,58	0,98	0,86
Kaffeesäure	0,20	0,79	0,50	1,04	1,05
Ferulasäure	0,21	0,21	0,42	0,87	0,77
Chlorogensäure	0,33	1,03	0,44	0,83	0,74

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Verbindung	Acetat- puffer	Molybdat- puffer	Phosphat	Borat	Glycinpuffer
	pH = 5,2; 9,2 m	pH = 5,2 8,1 · 10 ⁻³ m	pH = 7,2 0,2 m	pH = 10 0,2 m	pH = 10,2 0,1 m
p-Hydroxybenzaldehyd	0	0	0,27	0,84	0,79
Vanillin	0	0	0,27	0,79	0,76
Syringaldehyd	0	0	0,21	0,71	0,72
Umbelliferon	0	0	0,04	0,76	0,63
4-Methyl-umbelliferon	0	0	0	0,52	0,50
4-Methyl-äsculetin	0	0,61	0,11	0,48	0,27
Arbutin	0	0	0	0,22	0,09
Äsculetin	0	0	0,26	0,51	0,24
Phloridzin	0	0	0,08	0,42	0,14
Catechin	0	0,23	0	0,65	0,63
Quercetin	0	0,05	0	0,21	0
Myricetin	0	0	0	0,18	0
Luteolin	0	0	0	0,11	0
Kaempferol	0	0	0	0,12	0
Genistein	0	0	0,01	0,25	0,16
Irigenin	0	0	0,04	0,52	0,35

Die absolute elektrophoretische Beweglichkeit von 0-Hydroxybenzoesäure:

in cm/Std 1200 V	8,8	8,8	8,0	9,7	10,8
------------------	-----	-----	-----	-----	------

Tabelle 2. *R_f*-Werte einiger Phenole

Verbindung	Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5)		Äthylac.-Essigsäure-Wasser (9:2:2)	
	nicht behandelt	mit Molybdat imprägniert	nicht behandelt	mit Molybdat imprägniert
Phenol	0,94	0,97	0,96	0,91
Hydrochinon	0,87	0,91	0,87	0,68
Brenzcatechin	0,88	0,38	0,88	0,60
Resorcin	0,88	0,90	0,88	0,78
Phloroglucin	0,76	0,76	0,74	0,84
Pyrogallol	0,77	0,02	0,79	0,25
Hydroxyhydrochinon	0,74	0,03	0,74	0,34
3,4-Dihydroxyphenylalanin	0,08	0	0,19	0,01
o-Hydroxybenzoesäure	0,13	0,15	0,17	0,29
m-Hydroxybenzoesäure	0,25	0,33	0,95	0,92
p-Hydroxybenzoesäure	0,22	0,26	0,94	0,92
Protocatechusäure	0,82	0,06	0,86	0,24
Gallussäure	0,58	0	0,65	0,11
p-Cumarsäure	0,36	0,36	0,92	0,81
Kaffeesäure	0,68	0,01	0,83	0,44
Ferulasäure	0,23	0,25	0,92	0,90
Chlorogensäure	0,19	0	0,59	0,01
4-Methyläsculetin	0,76	0,21	0,83	0,26
Catechin	0,63	0,15	0,68	0,33
Quercetin	0,14	0,03	0,84	0,49
Genistein	0,71	0,78	0,98	0,98
Irigenin	0,59	0,65	0,97	0,98

erkennen. So ergeben nur o-Dihydroxybenzole und Endiole beim Besprühen mit 0,1 m Natriummolybdatlösung intensiv orangebraune Flecken. — Die Papier-elektrophorese wird mit den in Tab.1 angeführten Puffern auf Papier Whatman Nr. 3 bei 22 V/cm und einer Laufzeit von 1,5–2 Std ausgeführt. Aus den in Tab.1 angeführten relativen, auf o-Hydroxybenzoesäure bezogenen elektrophoretischen Beweglichkeiten wird deutlich, daß die Komplexbildung in den Molybdat und Borat enthaltenden Systemen einen deutlichen Effekt ausübt. Besprüht wird zur Kennzeichnung der Phenole mit diazotiertem p-Nitranilin nach T. SWAIN². Bei der absteigenden Papierchromatographie auf Papier Whatman Nr. 3 und mit Molybdat imprägniertem Whatman Nr. 3 werden die in Tab.2 angegebenen R_F-Werte erhalten.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 605–611 (1959). Univ. London (England). —

² Biochemic. J. **53**, 200 (1953); vgl. diese Z. **141**, 463 (1954).

E. BAYER

Eine kurze Mitteilung über die Trennung von Phenolderivaten an Ionen-austauschern machen G. KRAMPITZ und W. ALBERSMEYER¹. Sie verwenden den Kationenaustauscher Dowex 50 × 4 (Na⁺, 400 mesh). Das Harz wird nach bekannten Methoden präpariert². Man schlämmt das Harz mit Citratpufferlösung pH 3,42 in die Säule (55 × 1 cm) ein, wäscht mit etwa 120 ml 0,2 n Natronlauge nach und äquilibriert mit Pufferlösung. Die Analysenprobe, die 10–15 mg jedes Derivates enthalten kann und einen pH-Wert von 3–3,4 haben soll, wird aufgegeben und mit einer Geschwindigkeit von 15 ml/Std mit Pufferlösung eluiert. Bei Verwendung kleinerer Korngrößen des Harzes kann die Geschwindigkeit auf 30 ml/Std erhöht werden. In den Fraktionen zwischen 100 und 200 ml Eluat erscheint *Phenol*, zwischen 200 und 300 ml werden die *Kresole* eluiert und zwischen 350 und 500 ml die *Xylenole*. Der Nachweis der einzelnen Komponenten des Gemisches wird mit diazotiertem Nitranilin und der Infrarotspektroskopie geführt. Über weitere Untersuchungen soll später berichtet werden.

¹ Experientia (Basel) **15**, 375 (1959). Inst. Anatomie u. Physiol. der Haustiere, Univ. Bonn. — ² MOORE, S., u. W. H. STEIN: J. biol. Chemistry **192**, 663 (1951); **211**, 893 (1954); vgl. diese Z. **136**, 371 (1952). — MÜLLER, R., u. G. KRAMPITZ: Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **11**, 44 (1956); vgl. diese Z. **158**, 151 (1957).

MARGOT ZIMMERMANN

Über die quantitative spektrophotometrische Bestimmung von Brenzcatechin, Hydrochinon und Resorcin nebeneinander in wäßrigen Lösungen berichtet J. HALMEKOSKI¹. — Brenzcatechin bildet mit Molybdatationen eine braunrote Färbung aus, die durch Hydrochinon und Resorcin nicht gestört wird. Die beiden anderen Phenole werden nach Abtrennung von Brenzcatechin als Bleisalz colorimetrisch mit Folin-Denis-Reagens in saurem (Hydrochinon) bzw. alkalischem (Resorcin) Medium bestimmt. Resorcin kann auch auf Grund einer Farbreaktion mit Alkali und Chloroform bestimmt werden. — *Brenzcatechin*. Eine geeignete Menge des Phenolgemisches wird in einem 100 ml-Meßkolben mit 10 ml KH₂PO₄-NaOH-Pufferlösung pH 7² sowie 5 ml 0,1 m Na₂MoO₄-Lösung versetzt und mit Wasser zur Marke aufgefüllt. Innerhalb von 10 min wird die Lichtabsorption des braunroten Komplexes bei 412 nm bestimmt. — *Abscheidung von Brenzcatechin*. 25 ml der gefärbten Auffüllung werden in einen 50 ml-Meßkolben mit 25 ml gesätt. Bleiacetatlösung versetzt und unter gelegentlichem Umschütteln 30 min stehen gelassen. Man filtriert den Niederschlag ab, entnimmt 25 ml des Filtrates in einen zweiten 50 ml-Meßkolben und versetzt mit 25 ml gesätt. Natriumsulfatlösung sowie 1 g festem Natriumsulfat. Nach 10 min wird vom Bleisulfat abfiltriert und aliquote Teile des Filtrates zur Hydrochinon- bzw. Resorcinbestimmung verwendet. — *Hydrochinon*. Eine geeignete Menge wird mit 4 ml Folin-Denis-Reagens³

versetzt, in einem 100 ml-Meßkolben aufgefüllt und nach 10 min bei 800 nm photometriert. — *Resorcin. 1. Methode.* Ein anderer aliquoter Teil des obigen Filtrates wird im 50 ml-Meßkolben mit 5 ml Folin-Denis-Reagens sowie 20 ml 20%iger Natriumcarbonatlösung versetzt, aufgefüllt und 30 min bei 30° C stehen gelassen. Unmittelbar danach photometriert man bei 720 nm. — *2. Methode.* Ein aliquoter Teil des Filtrates wird im Meßkolben mit 10 ml Chloroform, 10 ml 2 n Natronlauge und Wasser bis 100 ml versetzt, lose verschlossen 1 Std unter gelegentlichem (vorsichtigem) Schütteln bei 57° C belassen und unmittelbar bei 410 nm photometriert. — Die Auswertung erfolgt mit Hilfe von analog angesetzten Eichkurven. Die Erfassungsgrenzen betragen 0,03 mg Brenzcatechin, 0,003 mg Hydrochinon und 0,001 mg (Folin-Denis) bzw. 0,02 mg (Alkali-Chloroform) Resorcin je Milliliter Lösung.

¹ Suomen Kemistilehti A **32**, 274—276 (1959). Univ. Helsinki (Finnland). —

² LANGE, N. A.: Handbook of Chemistry. Handbook Publ., Inc., Ohio, Seventh Edit. 1949, S. 1127. — ³ FOLIN, D., u. W. DENIS: J. biol. Chemistry **22**, 305 (1915).
H. GARSCHAGEN

IV. Spezielle analytische Methoden

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Über die Möglichkeiten der Trennung der Chalkone von den ihnen isomeren Flavanonen, sowie von Flavonolen und Flavanonolen berichtet R. NEU¹ eingehend an Hand von Literaturangaben. Nach eigenen Versuchen lassen sich Flavanone mit einer Säule aus gepulvertem Polyamid von den Chalkonen trennen. Ebenso lassen sich die Flavanole und Flavanole an Polyamidsäulen abtrennen. Für die Brauchbarkeit der Methode sind Beispiele aufgeführt. Das Polyamidpulver wird erst mit 1 n Essigsäure und dann mit Wasser neutral gewaschen. Die zu trennenden Substanzgemische werden, nach der Isomerisierung mit Phosphorsäure, neutralisiert, im Vakuum von Lösungsmitteln befreit und mit Wasser versetzt. Dann trägt man das Polyamidpulver unter Rühren ein. Nach Befreiung von anorganischen Salzen durch Absaugen und Waschen mit Wasser wird mit Wasser auf eine kurze Säule aus Polyamidpulver übergespült. Zur Abtrennung der Flavanone werden Methanol-Wasser-Gemische oder Methanol alleine benutzt.

¹ Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **293**, 169—174 (1960). Fa. Schwabe, Karlsruhe-Durlach. B. ROSSMANN

Zur Bestimmung einiger bei der Synthese von 2-Sulfonamido-5-acetyl-amino-1,3,4-thiadiazol (SATD) auftretenden Zwischenprodukte einschließlich der Ausgangsverbindung Dithioharnstoff (DTH) geben Z. BELLEN und M. SZELĄGOWSKA¹ neue Methoden an. — *Bestimmung von DTH.* Sie beruht auf der Methode zur Thioharnstoffbestimmung. Man löst 0,5 g der Substanz in dest. Wasser und verdünnt im Meßkolben auf 500 ml. 10 ml pipettiert man in einen 200 ml-Schliffkolben, setzt 20 ml 1 n Natronlauge und 25 ml 0,1 n Jodlösung hinzu, verschließt und beläßt das Gemisch 10 min lang im Dunkeln. Hierauf säuert man mit 15 ml 1:1 verd. Salzsäure an und titriert mit 0,1 n Thiosulfatlösung. 1 ml 0,1 n Jodlösung $\cong$ 0,000833 g DTH. — *Bestimmung von 2-Mercapto-5-amino-1,3,4-thiadiazol (MAT).* Man löst etwa 0,5 g (G) Substanz in 50 ml 0,2 n Natronlauge und titriert mit 0,2 n Salzsäure gegen Phenolphthalein (Verbrauch a Milliliter). Eine andere Einwaage G' von etwa 0,5 g läßt man unter gelegentlichem Umschütteln mit 200 ml Wasser 2 Std stehen. Hierauf filtriert man durch ein trockenes Filter unter Verwerfung der ersten 20 ml Filtrat. 50 ml des weiteren Filtrats titriert man mit

0,2 n Natronlauge gegen Phenolphthalein (Verbrauch b Liter). Die Menge der als Verunreinigung von MAT auftretenden Substanz X, die sauer reagiert, wird auf diese Weise berücksichtigt. Die erste Titration erfaßt die Gesamtsäuretitel einschließlich der von MAT. Man berechnet: $X = 13,32 [aN/G - (2bV - 0,814)/G']$, worin N die Normalität der Lauge, 0,814 die Korrektur für MAT-Löslichkeit und 133,2 das Molekulargewicht von MAT bedeuten. — Zur *potentiometrischen Bestimmung* löst man 0,1 g Prüfsubstanz in möglichst wenig siedendem Wasser, versetzt mit 100 ml etwa 1%iger Pikrinsäurelösung und läßt 40 min stehen. Hierauf filtriert man durch einen G3-Tiegel, wäscht 2 mal mit je 1 ml Wasser und titriert das Filtrat unter Verwendung von Kalomel- und Antimonelektrode mit 0,2 n Natronlauge. Auf der Titrationskurve entspricht der 1. Wendepunkt dem Laugenverbrauch zur Neutralisation der überschüssigen Pikrinsäure und der vom ausgefallenen Amin stammenden Salzsäure, der 2. der Summe aller Säuren. Aus der Differenz errechnet man die MAT-Menge. — *Nachweis der Substanz X*. Das als Hydrochlorid vorliegende, MAT verunreinigende Amin weist man durch Ausfällung aus dem mit wenig siedendem Wasser aus 0,1 g Probe gewonnenem Auszug mit 10 ml 1%iger Pikrinsäurelösung als gelben Niederschlag nach. Man kann diese Reaktion zur Bestimmung verwenden. — *Bestimmung vom 2-Mercapto-5-acetyl-amino-1,3,4-thiadiazol (MAAT)*. Man löst etwa 0,5 g Probe in 50 ml 0,2 n Lauge und titriert den Überschuß mit 0,2 n Salzsäure gegen Phenolphthalein zurück. — *Analysen von SATD*. a) Zur alkalimetrischen Bestimmung von SATD löst man 0,2 g Probe in 50 ml Aceton und titriert mit Lauge gegen Phenol- oder Thymolphthalein. Bei potentiometrischer Titration gibt der 2. Wendepunkt den Laugenverbrauch der Gesamt-SATD-Menge an. — b) Zur Bestimmung von SATD durch Destillation des Ammoniaks fügt man im 250 ml-Rundkolben zu etwa 0,5 g Substanz 130 ml dest. Wasser und 20 ml 30%ige Natronlauge und dest. $\frac{2}{3}$ des Gemisches in 50 ml vorgelegte 0,2 n Salzsäure. Aus dem Säureverbrauch berechnet man die SATD-Menge. Eventuell prüft man vorher auf Anwesenheit von Ammoniumsalzen. Auch hierzu verwendet man eine Lösung von ca. 0,5 g Substanz in 130 ml Wasser, der man aber 6 g Magnesiumoxyd zusetzt. Das durch Destillation in 0,2 n Salzsäure aufgefangene Ammoniak rechnet man auf NH_4Cl um und berücksichtigt es bei der SATD-Bestimmung. c) Zur Chloridbestimmung im Rohprodukt löst man 0,2 g Probe in 150 ml Wasser, versetzt mit 10 ml 1:1 verd. Salpetersäure und titriert potentiometrisch mit 0,1 n Silbernitratlösung oder verfährt nach VOLHARD. — d) Prüfung auf MAAT-Abwesenheit in technischem SATD. Man löst 10 mg SATD in 100 ml 10%iger Natriumcarbonatlösung und versetzt mit 1,0 ml 1%iger Stärkelösung und 3 Tr. 0,1 n Jodlösung. Die Lösung darf sich binnen 10 min nicht entfärben.

¹ Chem. analit. (Warszawa) 4, 29–36 (1959) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.)
Inst. allg. Chem. u. pharmaz. Inst. Warschau (Polen). H. FREYTAG

Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Chromonen und verwandten Verbindungen eignet sich nach J. S. KING jr. und N. H. LEAKE¹ die Farbreaktion mit alkalischer m-Dinitrobenzollösung. Aus Testen mit mehr als 100 Verbindungen konnten die Verf. ableiten, daß einfache Chromone mit einer Methyl- oder Methylengruppe in 2-Stellung charakteristische blaue oder rote Färbungen hervorrufen. Während Hydroxylgruppen stören, sind Methoxyl-, Methyl- und Halogensubstituenten ohne Einfluß auf die Farbreaktion. 3-Methylchromon erzeugt keine Farbe. — *Qualitativer Nachweis*. Zu einigen Kristallen oder 1 Tr. der zu untersuchenden Verbindung gibt man 0,3 ml m-Dinitrobenzollösung (2 g in 100 ml 95%igem Äthanol) sowie 0,6 ml äthanolische Kalilauge (12 g in 100 ml 95%igem Äthanol lösen und filtrieren; die Lösung ist täglich neu anzusetzen). Nach etwa 30 sec wird mit 5 ml 95%igem Äthanol verdünnt und die

Farbe beurteilt. — *Quantitative Bestimmung von 2,5,8-Trimethylchromon.* Die Probe wird in Chloroform gelöst und ein aliquoter Teil mit 5–100 µg Chromon in einem Prüfröhrchen mittels eines Luftstromes zur Trockne gedampft. Man versetzt mit 0,5 ml m-Dinitrobenzollösung (siehe oben) und nach dem Umschütteln mit 1,0 ml alkoholischer Kalilauge (siehe oben). Man schüttelt und gibt nach 5 min (Ausbildung der maximalen Färbung) 4,0 ml Wasser — 95%iges Äthanol (1:1) zu. Die Extinktion der Lösung wird in einem Spektralphotometer bei 520 nm gegen einen Reagentienblindwert bestimmt. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe einer in analoger Weise aufgestellten Eichkurve, die im Bereich von 5–100 µg dem Beerchen Gesetz gehorcht.

¹ Analyst 84, 694–699 (1959). The S. E. Massengill Co., Bristol, Tenn. (USA).

H. GARSCHAGEN

Eine papierchromatographische Trennungs- und Nachweismethode für Phenazinderivate geben L. BIRKOFER und G. LEITHÄUSER-WIETECKI¹ an. Sie verwenden hydrophobiertes (Schl. & Sch. 2043a „hy“) oder acetyliertes Papier (Schl. & Sch. 2043b, acetyliert). Die Trennung wird mit „reversed phases“ mit Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) oder Butanol-Aceton-Eisessig-Wasser (3:1:1:5) und mit Ammoniak, das mit Butanol gesättigt ist, absteigend durchgeführt. Die Auftrennung mit dem ammoniakalischen Lösungsmittel ist im allgemeinen besser, bei Verbindungen mit quartärem Stickstoff tritt jedoch Lufoxydation ein. Am besten wird 2 dimensional mit einem der sauren Lösungsmittel in der 1. Dimension und dem ammoniakalischen Lösungsmittel in der 2. Dimension getrennt. Zur Identifizierung werden die Chromatogramme im UV-Licht betrachtet. Dabei treten gelbe und rote Fluoreszenzen und dunkle Substanzflecken auf. Es wird empfohlen, mit Vergleichssubstanzen zu arbeiten, die vor der Trennung in der 2. Dimension aufgetragen werden. Für 16 Phenazinderivate werden R_F-Werte angegeben.

¹ Naturwissenschaften 46, 669 (1959). Chem. Inst. Univ. Köln.

MARGOT ZIMMERMANN

Zur Schnellbestimmung von Campher haben J. BLASZKOWICZ, K. ROCZNIAKOWA, ST. WAŃTUCH und M. BUKAŁA¹ die Esterifizierungsmethode mit Ameisensäure von G. BRUS und J. VEBRA² dadurch verbessert, daß sie nicht in phosphorsaurer, sondern in schwefelsaurer Lösung arbeiten, in der sich der Ester bei 15 bis 20° C innerhalb 3 min quantitativ bildet (in phosphorsaurer Lösung muß man 30 min auf 60° C erhitzen). Die Standardabweichung beträgt nur –0,9 gegenüber –1,8 in phosphorsaurer Lösung. Das Verfahren hat sich bei der Betriebsüberwachung der Campherherstellung bewährt. — *Ausführung.* In einem 200–300 ml-Kolben mit Schliffstopfen versetzt man 10 g der zu untersuchenden Probe mit einem Gemisch von 10 g Ameisensäure (96,5 oder mehr prozentig) und 1 g Schwefelsäure (D 1,8) und schüttelt 3 min lang energisch. Man überträgt dann in einen Scheidetrichter und schüttelt dort nacheinander energisch mit gesätt. NaCl-Lösung, 2–5%iger Lösung von Natriumcarbonat in gesätt. NaCl-Lösung und schließlich noch 3 mal mit gesätt. NaCl-Lösung. Der so gewaschene Ester (Isobornylformiat) wird 1 Std mit wasserfreiem Natriumsulfat geschüttelt und filtriert. 1 g des klaren Esters wird in einem Schliffkolben mit Rückflußkühler mit 25 ml 0,5 n alkoholischer Kalilauge 1 Std auf dem kochenden Wasserbad erhitzt, dann wird mit 50 ml kochendem Wasser verdünnt und der Laugeüberschuß mit 0,5 n Schwefelsäure in der Hitze gegen Phenolphthalein titriert. Auf die gleiche Art wird der Säureverbrauch von 25 ml der alkoholischen Kalilauge festgestellt. 1 ml 1 n Kalilauge entspricht 0,182 g Isobornylformiat.

¹ Chem. analit. (Warszawa) 4, 719–723 (1959) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Fabrik synthet. Stoffe, Pustków k/Dębicy u. Polytechn. Wrocław. — ² Bull. Inst. du Pin 15, 64 (1936).

A. KURTENACKER

Zur Bestimmung von Isoborneol beschreiben J. BŁASZKOWICZ, K. ROCZ-
NIAKOWA, ST. WAŃTCH und M. BUKAŁA¹ eine Schnellmethode, die auf der
Esterifizierung mit Ameisensäure in Gegenwart von Schwefelsäure beruht und die
in etwa 20 min durchzuführen ist. Die Analysenfehler betragen im Mittel $-1,75\%$.
Das Verfahren wird zur Kontrolle der industriellen Campherproduktion empfohlen.
Etwa anwesendes Camphen wird mitbestimmt. Um Isoborneol allein zu ermitteln,
muß der Camphengehalt gesondert (mit Bromat-Bromid) bestimmt und vom Ges-
amtgehalt abgezogen werden. — *Ausführung.* Man versetzt in einem Kolben mit
Schliffstopfen 1,5 g der zu untersuchenden Probe mit $5 \pm 0,002$ g Esterifizierungs-
gemisch [10 g 96%ige Ameisensäure + 3 g konz. Schwefelsäure (D 1,84)], schüttelt
10–15 min energisch, gibt dann 5 ml Xylol und 100 ml gesätt. Natriumchlorid-
lösung zu und titriert den unverbrauchten Säureüberschuß mit 1 n NaOH, gelöst in
gesätt. Kochsalzlösung, zurück. Als Indicator dient Phenolphthalein. Die Blind-
probe wird unter den gleichen Bedingungen durchgeführt. 1 ml verbrauchter 1 n
NaOH-Lösung entspricht 0,154 g Isoborneol.

¹ Chem. analit. (Warszawa) **4**, 725–727 (1959) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.)
Fabrik synthet. Stoffe, Pusków k/Dębicy u. Polytechn. Wrocław.

A. KURTENACKER

Die quantitative Bestimmung von Carotinoiden führen A. JENSEN und S. L.
JENSEN¹ mit Rundfilterchromatographie auf kieselgurhaltigem Papier durch. Die
 R_F -Werte von β -Carotin, Kryptoxanthin, Zeaxanthin, Lutein, Violaxanthin, Asta-
xanthin, Rhodoxanthin, Fucoxanthin, γ -Carotin, Lycopon und OH-Lycopon, P 481
und OH-P 481, Spirilloxanthin, Chloroxanthin, Rhodopin, Bacterioruberin und
Chlorophyll a und b verschiedenen Ursprungs (brauner Seetang, Bakterien, getrock-
netes Gras) und bei verschiedenen Lösungsmittelkonzentrationen sind angegeben. —
Arbeitsweise. Die Chromatographie wird nach der Methode von L. RUTTER² auf
Schl. & Sch.-Papier 287 (Kieselgurgehalt $\sim 20\%$) mit Petroläther (KP 60–70°C),
bzw. Petroläther/Aceton wechselnder Konzentration durchgeführt. Die zu unter-
suchende Lösung soll 10–100 μ g Carotinoide in Aceton oder Petroläther/Aceton
enthalten. Man tropft sie mit einer Capillare portionsweise auf die Mitte des Rund-
filters (12,5 oder 18 cm $\varnothing$) auf und dampft jedesmal das Lösungsmittel im Stick-
stoffstrom ab. Der Ausgangsfleck soll nicht mehr als 1 cm $\varnothing$ haben. Um den Fleck
zieht man einen „Acetonkreis“. Man erhält dadurch regelmäßiger abgegrenzte
Zonen. Die Trennung der Substanzen dauert 15–20 min. Zur Bestimmung des
 R_F -Wertes wird das Chromatogramm in warmer Luft getrocknet und nach Mar-
kierung der Zonen die Lage der Lösungsmittelfront im UV-Licht untersucht. Zur
quantitativen Bestimmung schneidet man die gefärbten Zonen naß aus, eluiert mit
Aceton und mißt das Absorptionsspektrum in den Extrakten mit einem Zeiss
PMQ 2-Spektrophotometer.

¹ Acta chem. scand. (Kopenhagen) **13**, 1863–1868 (1959). Norges Tekniske
Høgskole, Trondheim (Norwegen). — ² Nature **161**, 435 (1948).

URSULA BAUMANN

Eine colorimetrische Bestimmungsmethode für Carbazol, die auf der Reaktion
mit Xanthydrol in essigsaurer Lösung basiert, beschreiben G. GILBERT, R. M.
STICKEL und H. H. MORGAN jr.¹ Die Substanzen, die die Carbazol-Fraktion im
Steinkohlenteer häufig verunreinigen (Anthracen, Phenanthren, Acridin, Di-
benzothiophen) stören die Bestimmung nicht. Phenole sollen durch Extraktion mit
Natronlauge entfernt werden. *Arbeitsweise.* Eine Probe, die etwa 50 mg Carbazol
enthalten soll, wird in einen 100 ml-Meßkolben eingewogen, in Eisessig gelöst
(eventuell erwärmen) und mit Eisessig zur Marke aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung
versetzt man in einem 100 ml-Meßkolben mit 5 ml Xanthydrol-Reagenslösung

(5 g/l Eisessig) und 5 ml Salzsäure-Reagens (50 ml konz. Salzsäure mit Eisessig zu 1 l verdünnt), spült die Gefäßwandung mit 10 ml Eisessig ab und stellt die Lösung genau 15 min in ein siedendes Wasserbad. Man kühlt sofort unter fließendem Wasser ab, füllt mit Eisessig zur Marke auf und mißt die Extinktion bei 525 nm. Die Werte entnimmt man einer Eichkurve, die mit reinem Carbazol aufgestellt wird. Die relative Genauigkeit beträgt 0,6%.

¹ Analyt. Chemistry **31**, 1981—1983 (1959). US Steel Corp., Monroeville, Pa. (USA).
URSULA BAUMANN

Ein Verfahren für die colorimetrische Bestimmung von Pyridinderivaten durch Bildung von Kondensationsprodukten mit Epoxyden wurde von H. J. ROTH und H. O. SCHRIMPF¹ ausgearbeitet. — *Arbeitsweise.* Man löst die zu untersuchende Substanz in Methanol (Me), gibt eine Lösung von überschüssigem Epichlorhydrin (E) oder Styroloxyl (S) in Me zu, erwärmt in einem Acetylierungskolben unter Rückfluß auf 60—80° C, nachdem der Reaktionsansatz erforderlichenfalls mit alkoholischer Alkalilauge auf $pH > 7$ eingestellt wurde. Nach Erreichung der quantitativen Umsetzung, im allgemeinen innerhalb von 2 Std, füllt man mit Me auf ein angenommenes Volumen auf, ermittelt die Extinktion der Verdünnung bei 465 nm mit Hilfe eines Lange-Colorimeters (Modell VI) oder eines UV-Spektrophotometers (Unicam SP 500) in 1 cm-Küvetten und vergleicht mit analog hergestellten Eichkurven. — *Beispiele.* Isonicotinsäurehydrazid: 2,0—6,6 mg löst man in 1 ml Me, gibt eine Lösung von 50 mg E in 1 ml Me zu, erwärmt 2 Std auf 70° C, fügt nach dem Erkalten 1 Tr. 20%iger Natriummethylatlösung zu, füllt mit Me auf 10 ml auf und bestimmt die Extinktion nach 30 min Stehen. — *Marsalid:* 4,2—15,8 mg in 4 ml Me versetzt man mit 2 ml 0,5 n alkoholischer Kalilauge und 100 mg E in 1 ml Me, erwärmt 90 min lang auf 80° C, füllt mit Me auf 10 ml auf und filtriert. *Nicotinsäureamid:* 1,65—6,2 mg in 1 ml Me und 100 mg S in 1 ml Me erwärmt man 2 Std auf 80° C und füllt auf 100 ml mit Me auf. *Coramin:* 5,2—8,0 mg in 1 ml Me mit 100 mg S in 2 ml Me erwärmt man 2 Std auf 70° C und füllt mit Me auf 100 ml auf. *Chinin:* 10,0—56,0 mg in 1 ml Me mit 100 mg S in 1 ml Me 2,5 Std auf 70° C erwärmen, auf 10 ml auffüllen. *Cinchonidin:* 12,1—47,6 mg löst man in 2 ml Me und verfährt wie bei Chinin. *Papaverin:* 18,9—57,0 mg behandelt man wie bei Cinchonidin unter Erwärmen auf 80° C. „*Lazans Thomae*“: 13,0—58,4 mg löst man in 1 ml Me, erwärmt mit 100 mg S in 1 ml Me 2 Std lang auf 70° C, versetzt nach dem Erkalten mit 1 Tr. 20%iger Natriummethylatlösung und füllt mit Me auf 10 ml auf. Die Bestimmungen können auch bei Anwesenheit anderer, nicht reagierender Arzneistoffe, wie Barbiturate, Salicyl- und Pyrazolon-Derivate oder Phenacetin ohne vorherige Isolierung durchgeführt werden. α -substituierte Pyridinverbindungen zeigen dagegen ungenügende Farbintensität und zu lange Reaktionszeit, so daß das Verfahren für deren Bestimmung nicht geeignet ist (Eichkurven der genannten Substanzen im Original).

¹ Mitt. dtsh. pharmaz. Ges. u. pharmaz. Ges. DDR (Arch. Pharmaz. **293**, H. 2) **30**, 22—28 (1960). Univ. Würzburg.
K. SÖLLNER

Zur Trennung von Nicotinsäurederivaten durch Papierelektrophorese empfehlen T. K. SUNDARAM, K. V. RAJAGOPALAN und P. S. SARMA¹ folgende *Arbeitsweise.* Whatman-Papier Nr. 1 (30 × 4 cm) wird mit 0,03 m Natriumboratlösung (pH 8,9) getränkt und anschließend zwischen Filtrierpapier getrocknet. Nach 10 minütigem Äquilbrieren mit der Pufferlösung bei einer Potentialdifferenz von 280 V gibt man 10—20 μ l Probelösung (100 μ g/ml); untersucht wurden *Nicotinsäure*, *Nicotinamid*, *Nicotinharnsäure*, *N-methylnicotinamid*, *Diphosphopyridinnucleotid* und *Triphosphopyridinnucleotid* als Strich quer über den Streifen in der Mitte zwischen

beiden Elektroden. Man führt die Elektrophorese 1–2 Std bei 280 V durch, trocknet danach 5–10 min bei 100° C und entwickelt *Nicotinsäure*, *Nicotinamid* und *Nicotinharnsäure* durch 15 min langes Einwirken von Bromcyandämpfen, Besprühen mit 0,25% iger äthanolischer Benzidinlösung und erneutes 15minütiges Dämpfen mit Bromcyan, wobei tiefrote, rotbraune bzw. purpurrote Streifen sichtbar werden. *N'-Methylnicotinamid* und *Triphosphopyridinnucleotid* werden als blau fluoreszierende Streifen im UV-Licht nachgewiesen, nachdem man vorher das Papier mit einer Mischung aus Äthylmethylketon und Ammoniak gedämpft hat. Bei der Elektrophorese wandern *N'-Methylnicotinamid* und *Nicotinamid* auf die Kathode zu, während die anderen Verbindungen zur Anode wandern. — Als Pufferlösungen können auch mit Erfolg folgende Lösungen verwendet werden: 0,05 m Veronal p_H 8,6, 0,03 m Phosphat p_H 7,0 oder 10,2.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 531–535 (1959). Univ. Biochem. Lab., Madras (India).
H. GARSCHAGEN

Alkaloide. Für die Bestimmung von *Ergotamin(I)* neben *Ergotaminin(II)* in Arzneimitteln empfiehlt J. J. A. M. VAN DE LANGERIJT¹ folgendes chromatographisch-spektrophotometrisches Verfahren. Man verreibt eine 1,5–2 mg I-Tartrat enthaltende Menge des Arzneipräparates mit 5 ml 1% iger Weinsäurelösung (WS), gibt 10 ml Äther (Ae) und 500 mg Natriumhydrogencarbonat zu und mischt die Anreibung mit 5 g Celite 545, bringt die Masse quantitativ unter Nachspülen mit 20 ml Ae in eine mit Ablaufhahn versehene Chromatographieröhre von 150–200 mm Länge und 21 mm $\varnothing$, in die man vorher 5 g mit 5 ml Wasser befeuchtetes Celite 545 eingefüllt hat, indem man die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen zur Vermeidung von Luftblasen einhält. Dann eluiert man mit 100 ml Ae in einen Schütteltrichter, schüttelt das Eluat mit 25, 10, 10 und 5 ml WS aus und füllt die vereinigten WS-Extrakte mit WS auf 50 ml auf. Zur Trennung von I und II beschickt man eine 200 mm lange Röhre von 21 mm $\varnothing$, die mit einem Ablaufhahn versehen ist, nach Einlegen einer Glassinterplatte G 3 mit 30 ml einer formamidgesättigten Mischung von 270 ml Benzol und 30 ml Petroläther (B-P) in etwa 2 g-Anteilen mit insgesamt 15 g Celite 545, welches mit dem gleichen Gewicht Formamid gemischt worden war (C-F), so daß dieses in gleichmäßiger Schichtung und frei von Luftblasen eine Säule von etwa 10 cm Höhe bildet und läßt B-P bis auf 1 cm über der Füllung abtropfen. Nun engt man eine 1–1,5 mg I enthaltende Chloroform(CHf)lösung bei höchstens 25° C im CO₂- oder N₂-Strom auf 2–3 ml ein, vermischt das Konzentrat gleichmäßig mit 1,5 g C-F, verdampft das restliche Clf und bringt die Anreibung quantitativ auf die Spitze der C-F-Säule. Nach Aufbringen von 10 ml B-P eluiert man zunächst mit dem gleichen Lösungsmittel mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von 60–100 Tr./min, bis das beigemischte II restlos ausgewaschen ist, was durch die Bestimmung der UV-Absorption der einzelnen Fraktionen festgestellt werden kann. Die anschließende Isolierung des I erfolgt schneller bei Verwendung von formamidgesättigtem Benzol zur Eluierung. Beide Eluate verdünnt man mit je dem gleichen Volumen Ae und schüttelt sie mit soviel WS aus, daß die Konzentration der Alkaloide zwischen 10 und 50 μg I bzw. II liegt. Die quantitative Bestimmung erfolgt durch Messung der UV-Absorption nach bekanntem Verfahren. Alle Arbeiten müssen im diffusen Tageslicht, die Chromatographierung in der Dunkelkammer ausgeführt werden (Tabellen mit Analysenwerten im Original).

¹ Pharmaz. Weekbl. **95**, 133–138 (1960) [Holländisch]. Lab. Nederl. Apoth., Utrecht (Niederlande).
K. SÖLLNER

Die spektrophotofluorometrische Bestimmung von *Reserpin (Rp)* neben anderen *Rauwolfia*-Alkaloiden und diesen verwandten Verbindungen wurde von R. P. HAYCOCK, P. B. SHETH und W. J. MADER¹ bearbeitet. — Prinzip. Rp und die anderen

Rauwolfia-Alkaloide sowie deren Derivate besitzen bei der Bestrahlung mit monochromatischem UV-Licht Anregungsmaxima von bestimmter Wellenlänge, wodurch Fluoreszenz erzeugt wird, die ihrerseits für jede der Substanzen ein charakteristisches Intensitätsmaximum aufweisen. Durch abwechselnde Messung dieser beiden optischen Konstanten lassen sich die Alkaloide, auch in Mischung, quantitativ bestimmen (Diagramme und Tabellen im Original). — *Ausführung.* Man löst 25,0 mg Rp bzw. andere Alkaloide in 1 ml Chloroform, verdünnt die Lösung mit Methanol (Me) auf 100 ml, verdünnt 3 ml dieser Lösung nochmals mit Me auf 50 ml, entnimmt dieser Verdünnung 10 ml und füllt diese wieder mit Me auf 50 ml auf, so daß die letzte Verdünnung 3,0 μg Alkaloid in 1 ml enthält. Indol, Norharman und Harnalin verdünnt man auf 1,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Nun kalibriert man unter Verwendung von 1 cm-Quarzküvetten ein Aminco-Bowman-Spektrophotofluorometer nach der Technik von H. SPRINCE und G. R. ROWLEY² mittels Lösungen von 0,1 μg Chininsulfat in 1 ml 0,1 n Schwefelsäure, wobei das Anregungsmaximum bei 350 nm und das korrespondierende Fluoreszenzmaximum bei 450 nm gefunden werden. Verff. ermittelten die Anregungs- und Fluoreszenzmaxima sowie die relative Fluoreszenz-Empfindlichkeit nahezu aller Rauwolfia-Alkaloide (vgl. Original).

¹ J. Amer. pharmac. Assoc. sci. Edit. 48, 479—485 (1959). Ciba Pharmac. Products Inc., Summit, N.J. (USA). — ² Science 125, 25 (1957). K. SÖLLNER

Chromatographisch-titrimetrische Methoden zur Reinheitsbestimmung von Dihydromorphinonhydrochlorid (I), Dihydrocodeinbitartrat (II), Dihydrocodeinonbitartrat (III) und Codeinphosphat (IV) geben H. BÖHME und H. HÖCKE¹ bekannt. — *Verfahren I.* Man schlämmt 5,0 g Aluminiumoxyd „Woelm basisch“ Aktivitätsstufe I mit soviel einer Mischung von 100 ml Aceton und 20 ml Wasser an, daß der angeteigte Brei in ein mit Ablaufhahn versehenes, am unteren Ende mit Watte verschlossenes Chromatographierrohr von etwa 12 mm $\varnothing$ übergeführt werden kann, läßt den Überschuß an Lösungsmittel ablaufen und bringt nun auf die Spitze der Säule die Lösung von 0,15 g I (genau gewogen) in 10 ml Lösungsmittel. Nach Eindringen der Lösung in das Absorptionsmittel spült man 5 mal mit je 2 ml Lösungsmittel nach, dann eluiert man mit dem Rest des Lösungsmittels mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von 2 bis 3 ml/min. Nach Passieren von 75 ml Eluat versetzt man dieses mit 2 Tr. einer Lösung von 0,02 g Bromphenolblau in 10 ml 20%igem Methanol und titriert aus einer Feinbürette mit 0,1 n Salzsäure von Blauviolett nach Gelbgrün. 1 ml 0,1 n HCl entsprechen 32,18 mg I (wasserfrei) oder 28,53 mg I-Base. — *II.* Man schlämmt 10,0 g Aluminiumoxyd „Woelm neutral“ mit einer Mischung aus 50 ml Aceton und 40 ml Wasser in ein Chromatographierrohr, bringt die Lösung von 0,15 g II (genau gewogen) in 10,0 ml Lösungsmittel unter 5maligem Nachspülen mit je 2 ml Lösungsmittel quantitativ auf die Spitze der Säule und verfährt weiter wie bei I. 1 ml 0,1 n HCl entsprechen 45,15 mg II (wasserfrei) oder 30,14 mg II-Base. — *III.* Man arbeitet wie bei der Bestimmung von II. 1 ml 0,1 n HCl entspricht 44,95 mg III oder 29,94 mg III-Base. — *IV.* Man bringt die Anschlammung von 5,0 g Aluminiumoxyd „Woelm neutral“ mit dem bei II verwendeten Lösungsmittel in das Chromatographierrohr, beschickt die Spitze der Säule mit einer, gegebenenfalls durch leichtes Erwärmen hergestellten Lösung von 0,10 g IV in 10 ml Lösungsmittel und eluiert wie bei den vorhergehenden Verfahren. 75 ml Eluat titriert man nach Zusatz von 2 Tr. Bromphenolblaulösung und 1 Tr. einer 0,1% igen wäßrigen Methylenblaulösung mit 0,1 n Salzsäure bis zu der Farbe einer Vergleichslösung, die in 75 ml 50%igem Aceton 2 Tr. Bromphenolblaulösung, 1 Tr. Methylenblaulösung und 1 Tr. 0,1 n Salzsäure enthält. 1 ml 0,1 n HCl entspricht 39,74 mg IV oder 29,94 mg IV-Base. Das Original enthält mehrere Tabellen mit Analysenwerten und die UV-Absorptionskurven der genannten Alkaloide.

¹ Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 293, 342—356 (1960). Pharmaz.-Chem. Inst., Univ. Marburg/Lahn. K. SÖLLNER

Die *Alkaloidbestimmung durch Hochfrequenztitration* beschreiben F.-E. RAURICH-SAS und A. TARRÉS-TORRAS¹. Die Apparatur wird ausführlich beschrieben. Zu beachten ist, daß vor Versuchsbeginn Oscillator und Voltmeter zur Herstellung des thermischen Gleichgewichtes 20 min an das Netz angeschlossen werden. Die Lösung wird mit einem Glasrührer in Bewegung gehalten. Dann werden die Messungen durchgeführt, wobei im Abstand von 30 sec aus einer Mikrobürette die Maßlösung zugegeben wird. Es werden die charakteristischen Kurven aufgenommen, in denen die Ordinate die abgelesenen Volt und die Abszisse die Milliliter zugegebener Lauge angibt. Es wurden Sulfate, Hydrochloride, Hydrobromide, Phosphate und Acetate von *Chinin*, *Chinidin*, *Cinchonin*, *Codein*, *Papaverin*, *Heroin*, *Äthylmorphin*, *Morphin* und *Äthylmorphin* mit 0,1 n Natronlauge untersucht und die Kurven aufgenommen.

¹ Inform. Quím. analít. **14**, 1—19 (1960). Instituto „Alonso Barba“, S.I.C. Barcelona (Spanien).
IRMGARD PFITZER

Zur Bestimmung von Phenergan (Atosil, Prometazin, Chlorhydrat von 10-[2-Dimethylamino-propyl]-phenothiazin) in Ampullen und Tabletten eignen sich nach P. SPACU und E. ANTONESCU¹ die beiden Reagentien *Reinecke-Salz* und $[Cr(SCN)_6]K_3 \cdot 4 H_2O$. Die Bestimmungen können gravimetrisch, mit dem zweiten Reagens auch potentiometrisch oder photometrisch erfolgen. — *Ausführung.* *Makrogravimetrische Bestimmung mit Reinecke-Salz.* Man säuert die verdünnte zu untersuchende Lösung mit 0,5–1 ml verdünnter Essigsäure an, gibt 1%ige Reinecke-Salzlösung bis zur Dunkelfärbung der über dem Niederschlag befindlichen Flüssigkeit zu, erwärmt auf 70° C bis zum Zusammenballen des Niederschlages, kühlt, filtriert in einen Filtertiegel A₂ oder A₃, wäscht mit Wasser, bis die abfließende Flüssigkeit farblos geworden ist, trocknet bei 110° C und wägt als $Cu(NH_3)_2(SCN)_4 \cdot H \cdot C_{17}H_{20}N_2S$ (Umrechnungsfaktor = 0,4708). Bei Anwendung von 0,015–0,037 g Phenergan sind die Bestimmungen auf einige Zehntelprozent (rel.) genau. — Für die *mikrogravimetrische Bestimmung* von 0,1–2 mg Phenergan fällt man wie oben, läßt dann aber, ohne zu erwärmen, 2–3 min stehen (Fehler etwa 1%). *Bestimmungen mit $K_3[Cr(SCN)_6]$.* Für die gravimetrische Bestimmung wird die zu untersuchende Lösung mit 1–2 ml konz. Salzsäure angesäuert und unter Rühren mit konz. Reagenslösung bis zur Violettfärbung der überstehenden Flüssigkeit versetzt. Nach 5 min filtriert man in einen Filtertiegel, wäscht mit Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion, trocknet und wägt als $[Cr(SCN)_6]H_3(C_{17}H_{20}S)_3$ (Umrechnungsfaktor = 0,6789). Die Analysenfehler betragen wenige Zehntelprozent. — Zur *potentiometrischen Bestimmung* löst man den filtrierten und gewaschenen Niederschlag in 20 ml Aceton und titriert unter Verwendung von Silber-Kalomel-Elektroden mit 0,05 n $AgNO_3$ -Lösung². — Für die *photometrische Bestimmung* benutzt man ebenfalls die Lösung des Niederschlages in Aceton, füllt mit Aceton auf 25 oder 50 ml auf und mißt die Extinktion in 5 cm-Küvetten bei 574 nm (Grünfilter) gegen reines Aceton. Die Eichkurve ist für Phenerganmengen von 0,2–1 mg/ml eine Gerade.

¹ Studii Cercetări Chim. (Bucureşti) **7**, 247–256 (1959) [Rumänisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Zentrale d. chem. Forsch., Akad. R.P.R., Bukarest (Rumänien). —

² SPACU, P., C. GHEORGHIU u. E. ANTONESCU: diese Z. **174**, 81 (1960).

A. KURTENACKER

Antibiotica. Zur *colorimetrischen Bestimmung von Polymyxin* eignet sich nach V. D. KARCEVA und B. P. BRUNS¹ die Biuretreaktion. Die Farbtintensität ist der Polymyxinkonzentration proportional. — *Arbeitsweise.* 10 ml der Polymyxinlösung (500–1500 µg/ml) versetzt man mit 10 ml 0,5%iger $CuSO_4$ -Lösung und 4 ml 0,5 n Natronlauge, filtriert und mißt die optische Dichte der violetten Lösung in

einer 5 cm-Küvette mit entsprechendem Filter. Zur Polymyxinbestimmung in Kulturen reinigt man das Polymyxin durch Ionenaustausch am Kationenaustauscher KB-1 und eluiert mit methanolischer Salzsäure. Methanol vergrößert die optische Dichte, der Methanolgehalt muß mit Hilfe einer Eichkurve bei der Berechnung berücksichtigt werden. Eine Bestimmung dauert 10–15 min.

¹ Ž. anal. Chim. **14**, 628–629 (1959) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Allunions.-Wiss. Forschungsinst. f. Antibiotica, Moskau. H. NIESWAND

4. Analyse von biologischem Material

Ein erprobtes Spektrofluorimeter für biochemische Analysen beschreibt D. W. Moss¹. Das Gerät besteht aus einer Xenon-Bogenlampe (Siemens, 375 W, Quarzkolben), einem Quarz-Prismenmonochromator (Unicam SP 500), um die Wellenlängen der Aktivierungsstrahlung zu isolieren, und einem ähnlichen Monochromator, um die Wellenlänge der Fluoreszenzstrahlung zu isolieren und zu messen. Als Strahlungsempfänger dient ein Sekundärelektronenvervielfacher mit Quarzfenster (EMI Typ 6256). Bei den geringen Lichtintensitäten, mit denen das Gerät arbeitet, werden die Impulse verstärkt, gezählt oder auf einem Schreiber registriert. Der Strahl, der vom 1. Monochromator kommt, wird durch die Bohrung eines Aluminiumblockes geleitet, durchsetzt die Quarzküvette mit der Probelösung und tritt dann in den 2. Monochromator ein. Über 2 polierte Aluminiumspiegel wird ein Teil des Lichtes vor der Küvette abgelenkt und in einer Parallelbohrung im Alu-Block auf einen kleinen Fluoreszenz-Standard (p-Terphenyl und 2,5-Di(4-biphenyl)-oxazol in fester Lösung in Polyvinyltoluol von Fa. Nash und Thompson, Chessington, Surrey) geleitet. Die Fluoreszenzstrahlung der Probe und die des Standards können wahlweise durch einen Schieber getrennt auf die Kathode des SE-Vervielfachers gegeben und gemessen werden. Mit Hilfe eines Elektromotors und einer Hakenkette mit Kettenzahnradern kann wahlweise die Wellenlängeneinstellung des 1. oder 2. Monochromators laufend verändert werden, so daß die Aufzeichnung eines Aktivierungs-Spektrums im Bereich von 450–200 nm etwa 20 min dauert. Für die Aufnahme des Fluoreszenz-Spektrums im Bereich von 300–600 nm benötigt man etwa die gleiche Zeit. Der Verstärkungsgrad der Einrichtung wurde durch Eisen(III)-oxalat-Actinometrie überprüft. Ferner wurde der Einfluß der Alterung der Xenon-Bogenlampe auf den Verstärkungsgrad des Gerätes untersucht. Im Bereich von 250–400 nm wurde eine gute Konstanz festgestellt, selbst wenn die Lichtintensität um den Faktor 3 oder 4 abnahm. Bei zufälligen Schwankungen des Bogens war der Fehler nicht größer als $\pm 6\%$. Als Anwendungsbeispiel wird eine *enzymatische Reaktion* gebracht, bei der eine Änderung der Fluoreszenz während kurzer Zeit auftritt, die auf diese Weise gut verfolgt und registriert werden kann. So kann man aus 10 μ l Serum die *alkalische Phosphatase-Aktivität* durch die *Unterschiede der Fluoreszenz- und Emissionsspektren von α -Naphthylphosphat und α -Naphthol bestimmen*.

¹ Clin. chim. Acta (Amsterdam) **5**, 283–288 (1960). Postgrad. Med. School, London (England). H. POHL

Die Bestimmung von Mikrogramm-Mengen von Magnesium in festen Substanzen, wie Knochen und Zähnen beschreibt H. G. McCANN¹. Hierbei wird das im Überschuß vorhandene Calcium mit ÄDTA gebunden, so daß eine Ausfällung von Calciumphosphat vermieden wird und das Magnesium direkt als Thiazolgelb-Verbindung bestimmt werden kann. Nach dieser Methode können in 1–10 mg-Proben 0,2–3,0% Mg genau bestimmt werden. Die Untersuchungen

wurden an *menschlichen Knochen, Zähnen und Zahnschmelz, an Rattenzähnen, Truthahnknochen und -schen* vorgenommen. — *Ausführung.* Zu einer Lösung der veraschten Substanz, die 3,6 mg Ca enthält, fügt man 10,00 ml Mischreagens (siehe unten), verdünnt auf 40 ml, gibt 4,0 ml 10 n Natronlauge zu und füllt auf 50 ml auf. Nach 10 min mißt man die Absorption bei 548 nm und vergleicht sie mit den Werten aus einer Absorptionskurve bekannter Mg-Mengen (10–150 µg). Den Standardlösungen werden je 5 ml Calciumphosphatlösung zur Kompensation zugesetzt. Sind in der Probe weniger als 3,6 mg Ca enthalten, so wird auch hier Ca-Lösung zugefügt. Hat man nur 2 mg oder weniger von der veraschten Substanz zur Verfügung, so wird das Verfahren derart modifiziert, daß man eine Probe, die nur 0,72 mg Ca enthält, mit $\frac{1}{5}$ der Reagentien umsetzt und auf 10 ml verdünnt. Die Standards enthalten dann 2–30 µg Mg. — Die Magnesium-Farbverbindung bleibt bei Verwendung von frischem Polyvinylalkohol über 24 Std lang bestehen. Bei einem Calciumgehalt von 3,6–3,45 mg je Probe ergab sich mit 50 µg Mg dieselbe Absorption, bei 3,24 mg Ca war sie um 39% schwächer. Der Ca-Gehalt der Ascheproben von Zahnschmelz und Knochen kann ungefähr zu 36% und darüber angenommen werden. Die Proben werden gewöhnlich über Nacht bei 600° C mit halboffener Ofentür verascht, damit genügend Sauerstoff zutreten kann. Vorhandene Metallspuren (Zn, Fe) stören. Durch Extraktion mit 0,1%igem Diphenylthiocarbazon bei pH 5 wird das Metall durch mehrmalige Extraktion mit Chloroform der Dithizonüberschuß entfernt. Die CHCl₃-Reste werden mit einigen Tropfen Salzsäure weggekocht. Die Untersuchung von 10 Proben mit 5 µg Mg ergab eine mittlere Absorption von 0,061 mit einem Standardfehler von $\pm 0,003$. — *Mischreagens.* Man vermischt 50 ml Polyvinylalkohollösung (20 g/l l Wasser), 20 ml 1,67%ige ÄDTA-Lösung, 29 ml 5%ige Hydroxylaminchlorhydratlösung und 1 ml Thiazolgelblösung (0,5 g + 50 ml 95%iges Äthanol + Wasser auf 100 ml). — *Mg-Standard.* (1 mg Mg/ml-Lösung). Man löst 4,9502 g MgSO₄ (MgSO₄ · 7 H₂O bei 300° C bis Gewichtskonstanz dehydriert) in 1 l und verdünnt bis 1–10 µg Mg/ml. — *Calciumphosphat-Kompensationslösung* (0,72 mg Ca/ml). Man löst 1,800 g Calciumcarbonat (bei 105° C getrocknet) in 40 ml Salzsäure (1:1), kocht das Kohlendioxyd weg, fügt 1,58 g einbasiges Kaliumphosphat zu und verdünnt auf 1 l (1 ml dieser Lösung ist ungefähr äquivalent 2 mg veraschter Substanz).

¹ *Analyt. Chemistry* **31**, 2091–2902 (1959). National Inst. Dent. Res., Bethesda, Md. (USA).
LISELOTT JOHANNSEN

Über die Trennung von Phosphorsäureestern durch Ionenaustauschchromatographie berichten H. SCHMITZ und G. WALPURGER¹. Ein Gemisch von 27 Phosphorsäureestern wird unter den Bedingungen saurer Gewebsextrakte, pH 6–6,5, der Chromatographie an Dowex 2 × 10, HCOO⁻-Form, 200–400 mesh (Bett 1 × 36 cm) unterworfen. Verff. führen neben UV-Absorptionsmessungen und Phosphatbestimmungen noch andere für die jeweiligen Substanzen spezifische Reaktion durch. So gelingt es, nicht gut trennbare Verbindungen doch noch zu bestimmen. Die Ergebnisse der umfangreichen Untersuchungen sind mit Elutionsmustern und Tabellen belegt. Dies kombinierte Verfahren erzielt gegenwärtig wohl die besten Ergebnisse bei den in Frage stehenden Untersuchungen.

¹ *Angew. Chem.* **71**, 549–552 (1959). Physiol.-chem. Inst., Univ. Marburg/Lahn.
E. MÜLLER, Würzburg

Die colorimetrische Bestimmung kleiner Mengen Kobalt in Gewebe- oder Leberextrakten mit β -Nitroso- α -naphthol wird durch die Eigenfärbung der Lösung des Reagenses in Chloroform und durch die nicht vom Kobalt herrührenden

Färbungen, die sich aus diesen Extrakten und dem Reagens bilden, gestört. A. D. RONCHESE und M. MERMOD¹ beseitigen diese Schwierigkeiten, indem sie nach dem Veraschen von 0,5–10 g der Probe den weißen Rückstand mit 1–2 ml Perchlorsäure aufnehmen und vor der colorimetrischen Messung die Chloroformlösung mit einer alkalischen Pufferlösung aus 100 Volumteilen einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung und 120 Volumteilen 1 n Natronlauge ausschütteln. Dabei geht der Reagensüberschuß in die wäßrige Phase. Durch Behandlung der Chloroformschicht mit einer sauren Pufferlösung aus 60 Volumteilen einer 10%igen Lösung von kristallisiertem Natriumacetat und 40 Volumteilen 1 n Salzsäure verschwinden die restlichen störenden Färbungen. 0,1 μg Co können dann noch bestimmt werden.

¹ C. R. Acad. Sci. (Paris) **249**, 2421–2422 (1959).

G. DENK

Eine Methode zur schnellen Bestimmung von Blutalkohol durch Oxydation nach Diffusion in hohem Vakuum teilt H. S. MAHAL¹ mit. Es handelt sich um eine Modifikation der bekannten Methode von WIDMARK, die eine Vereinfachung

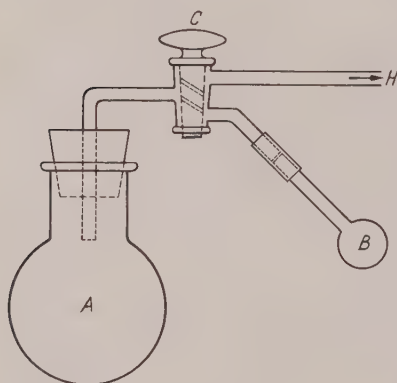


Abb. 1. Apparat zur Alkoholbestimmung im Blut nach MAHAL

und eine Beschleunigung der Bestimmung auf 5 min erzielt. Flüchtige Säuren werden zurückgehalten, Aceton stört praktisch nicht, während Methylalkohol, Propylalkohol, Äther, Chloroform und Formaldehyd nicht anwesend sein dürfen. — *Ausführung.* In den 250 ml-Kurzhalsrundkolben A (Abb. 1)

gibt man 2,5 ml 0,1 n Kaliumdichromatlösung und 10 ml konz. Schwefelsäure, befeuchtet durch Drehen die innere Oberfläche mit dem Gemisch und verbindet mit dem Dreiwegehahn C. In das 7,5 ml-Rundkölbchen B, dessen Hals 5 cm lang ist und 6 mm inneren $\varnothing$ besitzt, gibt man 1 g wasserfreies Natriumcarbonat und 0,5 ml Blut und verbindet in aus der Abbildung ersichtlicher Weise mit C.

Durch entsprechende Hahnstellung

evakuiert man A auf 1 mm Hg, stellt vorsichtig die Verbindung A–B her und schiebt allmählich einen Becher mit kochendem Wasser unter B, so daß das Kolfchen für 45 sec eintaucht. Man entfernt B von C sowie C von A und gibt langsam 150 ml Wasser in A. Nach Zusatz eines Überschusses frisch bereiteter 50%iger Kaliumjodidlösung titriert man sofort mit 0,05 n Natriumthiosulfatlösung unter Verwendung frisch bereiteter 1%iger Stärkelösung als Indicator. 1 ml 0,1 n Dichromatlösung entspricht 1,15 mg Äthanol.

¹ Anal. Chem. **31**, 1908–1909 (1959). Forensic Sci. Lab., Bombay (Indien).

E. MÜLLER, Würzburg

Die Identifizierung von 2-Hydroxystearinsäure im Rückenmark-Phrenosin durch papierchromatographische Trennung von Hydroxyfettsäuren führen V. P. SKIPSKI, S. M. ARFIN und M. M. RAPPORT¹ durch. Sie isolieren Phrenosin aus Rinderrückenmark durch Kombination der Methoden von N. S. RADIN² und B. WEISS³. Das isolierte Material wird mehrere Male aus Pyridin-Aceton umkristallisiert. Das Phrenosin wird mit 1,2 n Salzsäure in 90%igem Äthanol 2½ Std unter Rückfluß hydrolysiert. Nach Entfernung des Lösungsmittels werden die Fettsäuren mit Äther extrahiert, mit 1,25 n wäßriger Natronlauge verseift und wieder isoliert.

Die Analyse wird mit der Umkehrphasen-Papierchromatographie unter Verwendung einer Modifikation der Methode von H. P. KAUFMANN¹ bei erhöhter Temperatur (30–40° C) durchgeführt. Die Fettsäuren werden durch Umwandlung ihrer Wismutsalze in Wismutsulfid nachgewiesen. R_F-Werte verschiedener Hydroxysäuren sind im Original angegeben.

¹ Arch. Biochem. Biophysics **82**, 487–488 (1959). Sloan Kettering Inst., Cancer Res. und Yeshiva Univ., New York (USA). — ² RADIN, N. S., J. R. BROWN u. F. B. LAVIN: J. biol. Chemistry **219**, 977 (1956). — ³ WEISS, B.: J. biol. Chemistry **223**, 523 (1956). — ⁴ KAUFMANN, H. P., u. W. H. NITSCH: Fette u. Seifen **56**, 154 (1954); vgl. diese Z. **146**, 115 (1955).
JOHANNA SEPP

Eine Methode zur Bestimmung von Glutethimid in biologischen Flüssigkeiten geben L. R. GOLDBAUM, M. A. WILLIAMS und T. KOPPANYI¹ an. 2-Äthyl-2-phenylglutarimid (Glutethimid, Doriden) ist ein viel benutztes Sedativum und Schlafmittel. Nach eingehenden Untersuchungen entwickeln Verf. folgendes spektrophotometrisches Verfahren, das relativ spezifisch ist und ältere Methoden an Empfindlichkeit übertrifft; der Fehler ist kleiner als 5%. — *Ausführung.* 1–5 ml Plasma oder Harn extrahiert man mit 25 ml sehr reinem Chloroform, indem man 1 min in einem Glasstöpselgefäß (Stopfen mit Silicon gefettet) kräftig schüttelt und nach Absetzen die wäßrige Phase verwirft. Die organische Phase filtriert man durch ein schnelles Filter und wäscht sie unter Schütteln 2 mal mit 5 ml 0,5 n Natronlauge und 1 mal mit 5 ml 0,5 n Salzsäure. Nach Filtrieren dampft man einen aliquoten Teil (20 ml) auf dem Dampfbad auf 2–3 ml ein und trocknet an der Luft. Den Trockenrückstand nimmt man in 4 ml abs. Äthanol auf und pipettiert 3 ml davon in ein Stöpselreagensglas, das 1 ml 0,2 n Kalilauge enthält. Die Zeit des Mischens notiert man und mißt die Extinktion bei 280, 240, 235 und 225 nm gegen einen Blindansatz aus 3 ml abs. Äthanol + 1 ml 0,2 n Kalilauge. Ein Glutethimidstandardansatz zu 10 µg/ml läuft unter gleichen Bedingungen mit. Die Extinktion bei 235 nm mißt man etwa alle 500 sec mehrmals. Die Extinktion nach 10 Halbwertszeiten, etwa 10000 sec, ist durch andere Substanzen bedingt und muß subtrahiert werden. Die so erhaltenen Extinktionswerte trägt man auf halblogarithmisches Papier auf. Die Extinktion zur Zeit des Mischens und die zu Beginn erhält man durch Extrapolieren. Wenn die Probe Glutethimid enthält, ähnelt die Kurve der des Standardansatzes.

¹ Analyt. Chemistry **32**, 81–84 (1960). Armed Forces Inst. Pathol., u. Georgetown Univ. School Med. Dentistry, Washington, D. C. (USA).

E. MÜLLER, Würzburg

Über den Nachweis von 4-Amino-n-butyryleolin im Schweinegehirn berichtet H. KEWITZ¹. Aus dem Perchlorsäurehomogenat gelingt es, über den Tetraphenylboratkomplex den Cholinester als Chloroaurat zu isolieren. Die Ausbeute aus 24 kg Gehirn beträgt rund 300 mg Goldsalz. Sein Infrarotspektrum ist mit dem der synthetischen Substanz identisch. Die R_F-Werte des natürlichen Produktes und von synthetischem 4-Amino-n-butyryleolin sind in 2 Laufmittelsystemen gleich ebenso die ihrer Hydrolyseprodukte. Die Versuche sind eingehend beschrieben und werden besonders bezüglich der möglichen physiologischen Funktion des Cholinesters besprochen.

¹ Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **237**, 308–318 (1959). Freie Univ. Berlin.

E. MÜLLER, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung von Blutharnstoff mit p-Dimethylaminobenzaldehyd gibt H. H. BROWN¹ an. Eingehende Untersuchungen ergeben, daß nur Sulfonamide stören. Bei geeigneter Versuchsanordnung läßt sich der Fehler aber ausschalten. Verf. ermittelt optimale Bedingungen und erzielt Ergebnisse, die mit

denen der Diacetylmethode gut übereinstimmen. — *Ausführung.* In Reagensgläser pipettiert man je 1 ml: Wasser (Blindansatz für Standard); harnstofffreies Plasma (siehe unten) (Blindansatz für Probe); Standardlösung (siehe unten); Probe (Plasma oder Serum). In jedes Glas gibt man 7 ml Wasser, 1 ml Zinksulfatlösung (siehe unten), 1 ml Natronlauge (siehe unten) und mischt nach jedem Zusatz, besonders nach den beiden letzten, gut. Nach Filtration versetzt man 2 ml jedes Filtrates mit 2 ml p-Dimethylaminobenzaldehydreagens (siehe unten) und mißt nach 10 min die Extinktion des Standards gegen den Wasserblindansatz und der Probe gegen harnstofffreies Plasma als Blindansatz bei 440 nm. Die letzte Messung wiederholt man bei 480 nm. Jede Probe, deren Extinktion bei 480 nm etwa 10% größer ist als die bei 440 nm enthält Sulfonamide und muß folgendermaßen behandelt werden: Je 2 ml des Filtrates vom Blindansatz und von der verdächtigen Probe sowie des 50 mg-Harnstoffstandards pipettiert man in Reagensgläser, setzt 2 Tr. Urease-lösung (siehe unten) zu, mischt und läßt 30 min stehen. Man gibt 2 ml Farbreagens zu, mischt und mißt nach 10 min die Extinktion bei 440 nm. Die 50 mg-Standard-lösung muß dieselbe Extinktion aufweisen, wie ihr Blindansatz, wodurch die Aktivität der Ureaselösung bewiesen wird. Wenn man die Extinktionen der verunreinigten Proben von denen der Proben abzieht, erhält man die durch Harnstoff bedingte. Aus Standardkurven entnimmt man die Werte. Proben mit erheblich höherem Wert als 50 mg Harnstoff/100 ml, verdünnt man mit der gleichen Menge harnstofffreiem Plasma, mißt die Extinktion und multipliziert den zugehörigen Harnstoffwert mit 2; man kann auch noch mehr verdünnen. Wenn bei hoher Harnstoffkonzentration Sulfonamide vorhanden sind, muß man sich überzeugen, daß die Ureaseaktivität ausreicht, allen Harnstoff abzubauen. — *Zinksulfatlösung.* 100 g des Heptahydrates löst man zu 1 l mit Wasser. — *Ungefähr 0,5 n Natronlauge.* Beide Lösungen werden durch entsprechendes Verdünnen so gegen Phenolphthalein eingestellt, daß 10 ml Zinklösung, die mit Wasser auf ~ 50 ml verdünnt sind, $10 \pm 0,05$ ml Natronlauge erfordern. — *p-Dimethylaminobenzaldehydlösung.* Man löst 5 g Aldehyd in 95% igem Alkohol und verdünnt damit auf 100 ml. In einem 100 ml-Meßkolben versetzt man 50 ml dieser Lösung langsam mit 5 ml konz. Schwefelsäure, mischt und füllt nach Abkühlen mit der alkoholischen Lösung auf 100 ml auf. Bei Raumtemperatur einige Wochen haltbar. — *Alkoholische Pufferlösung.* In einem 100 ml-Meßkolben löst man 10 g Natriumacetattri-hydrat und 1 g Dinatrium-äthylendinitrilotetraacetatdihydrat in etwa 50 ml Wasser, fügt 30 ml 95% igen Alkohol hinzu und füllt mit Wasser zur Marke auf. Der pH-Wert soll etwa 6,8 betragen. — *Ureaselösung.* In einem Erlenmeyer-Kolben versetzt man 0,5 g entfettetes Jackbohnenmehl mit 20 ml alkoholischer Pufferlösung, schüttelt 5 min und filtriert. Nach Sedimentieren benutzt man den Überstand, dessen Aktivität sich im Kühlschrank einige Tage hält. — *Harnstofffreies Plasma.* Man sammelt etwa 5 ml sulfonamidfreies Plasma (oder Serum) mit normalen Harnstoffwerten, versetzt mit 3 oder 4 Tr. Ureaselösung, bedeckt und läßt über Nacht bei Raumtemperatur stehen. — *Harnstoffstandardlösungen.* In einem 100 ml-Meßkolben löst man 107 mg Harnstoff in Wasser und füllt damit zur Marke auf. Das entspricht 50 mg Harnstoff-N/100 ml. Daraus stellt man Verdünnungsreihen her.

¹ Analyt. Chemistry **31**, 1844—1846 (1959). Memorial Hospital, Pawtucket, R.I. (USA).

E. MÜLLER, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung von D (—)Milchsäure beschreiben C. J. A. VAN DEN HAMER und R. W. ELIAS¹. Sie beruht darauf, daß *Escheria coli* B in Gegenwart von Methylenblau Milchsäure oxydiert. Der Sauerstoffverbrauch der Reaktion kann in einer Warburg-Apparatur gemessen werden. Die Genauigkeit liegt bei 5—10% bei Mengen zwischen 0,1 und 2 mg Milchsäure. Acetat, Acetylmethylcarbinol,

Kaliumcitrat, Äthanol, Glycerin, Glycokoll, Glycylglycin, Kalium-DL-malat, Kaliumoxalacetat, Kaliumpropionat und Natriumbrenztraubensäure stören die Reaktion nicht. — *Arbeitsweise.* Man verpflanzt gewöhnliche *Escheria coli* B in ein Medium, das im Liter 4,5 g Kaliumdihydrogenphosphat, 0,5 g Ammoniumsulfat, 0,5 g Ammoniumchlorid, 2,8 g Natrium-DL-lactat und Spuren Eisen- und Magnesiumsulfat enthält und mit Natronlauge auf pH 7,6 eingestellt wird. Die Kultur wird 24 Std bei 30° C geschüttelt oder mit steriler Luft durchgeblasen, dann in die 15fache Menge des gleichen Mediums gegeben und nochmals 24 Std bei 30° C belüftet. Man zentrifugiert die jetzt stark getrübbte Flüssigkeit (80% Absorption für weißes Licht), wäscht zweimal mit physiol. Kochsalzlösung und suspendiert die Zellen in Kochsalzlösung ($1/4$ des ursprünglichen Volumens). Dann setzt man unter lebhaftem Rühren und Kühlung (0° C) langsam das fünffache Volumen kaltes Aceton zu, suspendiert die ausgefallenen Zellen in ungefähr dem gleichen Volumen Aceton und zentrifugiert. Das wiederholt man dreimal, zuletzt unter Verwendung von wasserfreiem Aceton. Man trocknet das Zellenpulver bei Zimmertemperatur im Vakuum. Zur Messung suspendiert man 350 mg des so gewonnenen Präparates in 10 ml 0,2 m Phosphatpuffer (pH 7,5) möglichst homogen und beschickt dann ein normales Warburg-Gefäß: in den mittleren Behälter bringt man 0,1 ml 10%ige Kalilauge, in den Ansatz 0,2–0,6 ml der zu untersuchenden Probe und in den Reaktionsraum 1 ml der Bakteriensuspension, 0,3 ml 2,5%ige Methylenblaulösung und soviel Wasser, daß das Gesamtvolumen im Gefäß 2,4 ml beträgt. Man inkubiert bei 37° C in Luft, wobei man 70 mal je Minute schüttelt. Der Sauerstoffverbrauch wird wie üblich gegen eine Blindprobe gemessen. Die Gesamtmilchsäure der Probe wird nach einer modifizierten Methode von BARKER und SUMMERSON² bestimmt, der L(+)Milchsäuregehalt aus der Differenz errechnet.

¹ Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **29**, 556–562 (1958). Lab. Hyg., Univ. Utrecht (Holland). — ² NEISH, A. C.: Analyt. Methods for Bacteriol. Fermentation 2. Aufl., 1952.

URSULA BAUMANN

Über die papierchromatographische Trennung von Brenztrauben-, Oxalessig- und α -Ketoglutar Säure aus Gewebeskulturen berichten G. A. ABDEL-TAWAB, E. BRODA und G. KELLNER¹. Es handelt sich um eine Modifikation der Methoden von D. CAVALLINI, N. FRONTALI und G. TOSCHI²; D. CAVALLINI und N. FRONTALI³ sowie E. KUN und M. GRACIA-HERNANDEZ⁴, die auf einer Trennung der 2,4-Dinitrophenylhydrazone der in Frage stehenden Ketosäuren beruhen. Verff. untersuchen Gewebeskulturen von Mesenchymalgewebe („Fibroblasten“) 10 Tage alter Hühnerembryonen. — *Ausführung.* Die Kulturansätze enteiweißt man bei 0° C mit 0,1 ml 60%iger Perchlorsäure, wäscht mit Alkohol nach, zentrifugiert und filtriert den Überstand in 1 ml einer frisch bereiteten 0,1 m Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 0,2 n alkoholischer Salzsäure. Nach 2 Std gibt man die Lösung in einen 100 ml-Scheidetrichter, spült 3 mal mit je 15 ml Äther nach und setzt etwa 150 ml Wasser zu. Nach leichtem Schütteln trennt man die Phasen, schüttelt die Wasserphase noch 2 mal mit je 15 ml Äther aus und die vereinigten Ätherphasen 2 mal mit je 100 ml Wasser. Aus dem Äther extrahiert man die Hydrazone mit 2 ml 10%iger Natriumcarbonatlösung, die man nach Ansäuern mit verd. Salzsäure 2 mal mit Äther extrahiert. Den Ätherextrakt (10 ml) wäscht man 2 mal mit je 20 ml Wasser und trocknet ihn, indem man durch wasserfreies Natriumsulfat filtriert. Nach Verdampfen des Äthers löst man die Hydrazone in 1 ml Alkohol und trägt zur Chromatographie auf. Vor Gebrauch zieht man Whatman-Papier Nr. 1 durch 0,1 m Phosphatpufferlösung von pH 7,4 und trocknet an der Luft. 15 cm vom oberen Rand entfernt trägt man tropfenweise die gesamte alkoholische Lösung im Startpunkt auf und trocknet im heißen Luftstrom. Im absteigenden Verfahren

entwickelt man das Chromatogramm 24 Std mit n-Butanol, das vorher mit dem gleichen Volumen 3%igem Ammoniak ins Gleichgewicht gebracht wurde. Die Gefäßatmosphäre muß 5 Std mit dem Laufmittel gesättigt werden. Die R_f -Werte sind für die 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Brenztraubensäure 0,61 und 0,75, von Oxalessigsäure 0,10 und von α -Ketoglutarensäure 0,07. Nur frisch hergestelltes Hydrazon von Brenztraubensäure gibt nur einen Fleck (0,61), auch nach Aufbewahren im Kühlschrank entstehen zwei. Für die photometrische Auswertung eluiert man die ausgeschnittenen Fleckareale 5 Std unter gelegentlichem Schütteln mit 10 ml 0,1 M Phosphatpufferlösung von pH 7,4.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 99–107 (1959). Univ. Wien (Österreich). — ² Nature **163**, 568 (1949); **164**, 792 (1949); vgl. diese Z. **139**, 212 (1953). — ³ Ricerca sci. **23**, 807 (1953); vgl. diese Z. **146**, 398 (1955). — ⁴ Biochim. biophysica Acta **23**, 181 (1957); vgl. diese Z. **160**, 218 (1958). E. MÜLLER, Würzburg

Aminosäuren. Über die Trennung von Aminosäuren mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie berichten E. MUTSCHLER und H. ROCHELMMEYER¹. Wenn man das Kieselgel für die Trennschicht statt mit Wasser mit Sörensen-Pufferlösung ansetzt, erhält man gute Trenneffekte für Aminosäuren. Für das 2dimensionale Verfahren verwenden Verf. als Laufmittelsysteme 70%igen Alkohol sowie 96%igen Alkohol-25%ige Ammoniaklösung (4:1) und geben das Verteilungsmuster von 14 Aminosäuren unter diesen Bedingungen in einer Abbildung an. In einer Tabelle sind die R_f -Werte für 13 Aminosäuren in den beiden obigen Systemen und in Äthanol-Ammoniak-Wasser (7:1:2) zusammengestellt.

¹ Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **292**, 449–452 (1959). Pharmaz. Inst., Univ. Mainz. E. MÜLLER, Würzburg

Im Zuge ihrer Untersuchungen über die Trennung von Aminosäuren an Ionenaustauschersäulen berichten J. SCHORMÜLLER und E. HOFMEISTER¹ über die Trennung von Arginin, Histidin, Lysin, Tryptophan und Ammoniak mit Hilfe des Anionenaustauschers Amberlite XE 64. Die Leistungsfähigkeit der Methode wird an Untersuchungen über die Histidin- und Lysinbilanz von enzymatisch abgebautem Milcheiweiß erwiesen. Der maximale Fehler beträgt $\pm 3\%$. — Vorbereitung des Harzes. Amberlite XE 64 (200–400 Maschen) wird mit Wasser, Aceton, 2 n Natronlauge und 3 n Salzsäure gewaschen und die so erhaltene Säureform mit dem 3fachen Volumen Elutionspuffer (siehe unten) gerührt. Dabei fällt der pH-Wert der Suspension sofort ab; er wird durch Zugabe von 5 n Natronlauge auf pH 6 gehalten. Wenn diese Reaktionslage nach 15 min Rühren konstant bleibt, läßt man über Nacht stehen. Am nächsten Morgen wird die Reaktion nochmals überprüft, das Harz auf einer Glasfritte abgesaugt und mit Puffer pH 6,0 bis zur Gleichgewichtseinstellung gewaschen. Aufbewahrung erfolgt kühl in dunkler, gut verschlossener Flasche. Die unangenehme Eigenschaft derartiger Säulenfüllungen, nach einigen Analysen zu schrumpfen, läßt sich vermeiden, wenn durch mehrmaliges Abdekantieren in konstanten Zeitabständen feine Schwebeteilchen entfernt und nur die grobe Fraktion des Harzes (entsprechend 200–400 Maschen) zur Füllung benutzt wird. — Füllung der Säule. Das Harz wird in 2 Volumenteilen Puffer suspendiert und mit Hilfe eines Trichters gleichmäßig in die Säule (0,6 × 40 cm-Säule aus Glas mit eingeschmolzener G 1-Fritte, Hahn und Wassermantel [3 × 35 cm]) gefüllt. Nachdem 10 ml des Puffers durch die Säule gelaufen sind, ist diese gebrauchsfertig. — Gang der Trennung. Die zu trennende Lösung soll zweckmäßig etwa 1 μ Mol jeder Aminosäure enthalten, ohne daß damit die Beladungskapazität der Säule erschöpft ist. Säurehydrolysate müssen im Vakuum von der Säure befreit und im Elutionspuffer aufgenommen werden. Nachdem der Wassermantel 1 Std vor Beginn der Analyse auf 30° C angeheizt war, gibt man 0,5–2 ml der Analysenlösung auf die

Säule, läßt die Probe einsickern, wäscht dreimal mit je 0,3 ml Puffer nach und verbindet dann mit dem den Elutionspuffer enthaltenden Vorratsgefäß. Die Fließgeschwindigkeit soll 2 ml/Std betragen, das Eluat wird in Fraktionen von je 0,5 ml (Fraktionssammler Chromatopart der Firma Bender & Hobeim GmbH., München) aufgefangen. Nach 100 Fraktionen (Gesamtvolumen 50 ml) ist die Trennung beendet. — Die *Auswertung* der Eluatfraktionen erfolgt nach dem früher² beschriebenen Verfahren. — *Herstellung des Elutionspuffers*. 2. Vol.-Teile Citratpuffer pH 6,0 (42,0 g krist. Citronensäure + 23,0 g NaOH in 1000 ml) werden mit 1 Vol.-Teil Phosphatpuffer pH 6,0 (25,6 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ + 12,9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ in 1000 ml) gemischt und gegebenenfalls mit n Natronlauge oder n Salzsäure auf pH 6,0 nachgestellt. Die Lösungen können mit Thymol konserviert werden. — Verff. geben weiterhin noch ein Verfahren an, mit dessen Hilfe die bei Verwendung des Kationenaustauschers Dowex 50 $\times$ 8³ in einer Fraktion erscheinenden Aminosäuren *Hydroxyprolin* und *Asparaginsäure* auf Grund ihrer verschiedenen Extinktionen bei der Ninhydrinanfärbung getrennt vermittelt werden können.

¹ Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **111**, 20–23 (1959). Techn. Univ. Berlin. —

² SCHORMÜLLER, J., H.-D. BELITZ u. G. ADLER: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **109**, 129 (1959); vgl. diese Z. **172**, 151 (1960). — ³ SCHORMÜLLER, J., u. G. ADLER: Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. **109**, 13 (1959). H. GARSCHAGEN

R. RIEMSCHEIDER und K. PREUSS¹ beschreiben *Farbreaktionen von 4,5-Diacetyl-cyclohexen-(1) mit den Aminosäuren Glycin, Lysin, Leucin, Alanin, Phenylalanin, Methionin, Valin, Histidin, Cystein, Glutaminsäure und Asparagin*. Es wurden jeweils 0,5 ml 2%ige alkoholische Lösung des Reagenses 10 ml der Aminosäurelösung (enthaltend 1 mg N/ml) zugesetzt, 1–3 Std wurde auf $80 \pm 5^\circ \text{C}$ erhitzt und nach verschiedenen Zeitabständen die Absorption gemessen. Diese Versuche wurden in Probelösungen von pH 9,0 (Kolthoff-Puffer) und von pH 2,1 (essigsauer) ausgeführt. Die untersuchten Aminosäuren geben mit dem Reagens rosa bis bräunliche Färbungen, die mit zunehmender Reaktionszeit intensiver werden (Tabelle im Original). Es wurden auch papierchromatographische Versuche angestellt, bei denen jeweils 0,1 ml einer Reihe von Aminosäurelösungen (in Kolthoff-Puffer) auf das Papier aufgetragen wurde. Nach dem Trocknen an der Luft wurde mit der Reagenslösung besprüht und 2 Std auf 80°C erwärmt. Glycin zeigt schon nach 30 min einen blauroten Fleck. Nach 2 Std erscheinen auch die blauroten bzw. rotvioletten Flecke der anderen Aminosäuren, die im Laufe der Zeit noch intensiver werden; erst nach mehreren Wochen nahm die Farbindensität ab. — Es wird eine Vorschrift zur Darstellung des Reagenses angegeben.

¹ Mh. Chem. **90**, 924–928 (1959). Freie Univ. Berlin-Dahlem. F. SCHÄRTL

Zur *quantitativen Bestimmung von Aminosäuren durch Kombination von Säulen- chromatographie und Papierchromatographie* trennt F. LUNDQUIST¹ zunächst an vorbehandeltem Ionenaustauscher in 5 Gruppen auf, verfährt weiter papierchromatographisch und bestimmt quantitativ colorimetrisch mit Ninhydrin. Die Aminosäuren enthaltenden Lösungen (z. B. *Proteinhydrolysate, Plasma, Urin*) werden zunächst aus saurer Lösung in einer Säule (90 $\times$ 4 mm) an Dowex 50 (H⁺-Form) adsorbiert und danach mit 1 n Ammoniaklösung eluiert. — Zur *Trennung* in die 4 verschiedenen Gruppen werden 2 ml 0,2 n ammoniakalische Lösung mit je 5 bis 100 μMol des entsalzten Aminosäuregemisches über eine mit etwa 1,5 ml Dowex 50 $\times$ 4 (200–400 mesh, H⁺-Form) gefüllte Säule (2 $\times$ 500 mm) gegeben. Der Ionenaustauscher wurde vorher aufeinanderfolgend mit 0,6 mMol Isopropylpyrazol, 0,6 mMol Pyrazol und 0,6 mMol Nicotinamid behandelt. Die adsorbierten Aminosäuren werden nun durch eine 0,1 m Piperidinlösung verdrängt unter Anwendung eines geringen Überdruckes von etwa 36 mm Hg. Die Fraktionen werden in Intervallen

von 30–40 min aufgefangen. Bei einem Volumen von etwa 0,4 ml je Fraktion werden so 50–60 Fraktionen erhalten. Mittels der Ninhydrinreaktion wird verfolgt, in welchen Fraktionen sich die einzelnen Gruppen befinden. Zunächst werden *Asparaginsäure*, *Glutaminsäure*, *Serin*, *Threonin*, *Prolin*, *Hydroxyprolin* und *Glutamin* gemeinsam eluiert (Gruppe 1), dann folgen *Glycin*, *Alanin*, *Valin*, *Methionin*, *Leucin*, *Isoleucin* und *Cystin* (Gruppe 2), dann *Phenylalanin* und *Tyrosin* (Gruppe 3), dann *Histidin*, *Lysin*, *Tryptophan* und β -*Aminoisobuttersäure* (Gruppe 4) und davon gut abgetrennt *Arginin* (Gruppe 5), welches direkt im Eluat colorimetrisch bestimmt werden kann. Gruppe 1 und 2 werden nach C. E. DENT² durch zweidimensionale Papierchromatographie getrennt (Papier: Whatman Nr. 1, Phenol-Wasser in der einen und Collidin-Lutidin-Wasser in der anderen Laufrichtung). *Leucin* und *Isoleucin* (Gruppe 2) können durch ein besonderes, eindimensionales Chromatogramm mit Benzylalkohol getrennt werden. Gruppe 3 und 4 werden eindimensional mit Phenol-Wasser bzw. Collidin-Lutidin-Wasser aufgetrennt. Von den vereinigten Fraktionen jeder Gruppe werden jeweils 10–15 μ l chromatographiert. Die quantitative Aminosäurebestimmung wird nach H. MEYER³ ausgeführt. Die durch Besprühen mit Ninhydrin gekennzeichneten Flecken werden ausgeschnitten, mit einer alkoholischen Ninhydrinlösung gekocht, durch Watte filtriert, auf 5 ml aufgefüllt und bei 578 nm die Extinktion gemessen. Um gute Blindwerte zu erhalten, muß das bei der oben beschriebenen Papierchromatographie benutzte Papier mit einer Lösung von 8-Hydroxychinolin und Äthylendiamintetraessigsäure in 0,5% iger Natriumcarbonatlösung und anschließend mit Wasser gewaschen werden. Für jede Aminosäure muß unter den angegebenen Bedingungen eine Eichkurve aufgestellt werden. Obgleich die Ausbeuten z. B. bei *Serin*, *Threonin*, *Histidin* und *Arginin* nicht 100%ig sind, werden konstante auf 3% reproduzierbare Werte erhalten. Wenn neben *Histidin* β -*Aminobuttersäure* anwesend ist, welche unter den beschriebenen Bedingungen nicht getrennt werden, muß *Histidin* durch Kuppeln mit diazotiertem p-Chloranilin bestimmt werden und β -*Aminobuttersäure* aus der Differenz bei der Ninhydrinmethode ermittelt werden. *Cystin* wird vor der Papierchromatographie mit Wasserstoffperoxyd zur *Cysteinsäure* oxydiert und als solche bestimmt.

¹ Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 784–787 (1959). Univ. Inst. Forensic Med. Kopenhagen (Dänemark). — ² Biochemic. J. **43**, 169 (1948). — ³ Biochemic. J. **67**, 333 (1957).

E. BAYER

Über Methoden zur Schnellbestimmung von Aminosäuren und verwandten ninhydrinpositiven Verbindungen berichten G. KRAMPITZ, R. MÜLLER und M. VOLLMERS¹. Mit einer Substanzmenge, die 1 mg Stickstoff entspricht, beschicken Verf. die Säulen aus Amberlite IR 120, Korngröße 50–60 μ und erreichen bei 2–3 atü Stickstoff eine Durchflußgeschwindigkeit von 12–16 ml/Std. Einen großen Teil der Aminosäuren, die „klassischen“, trennt man an der 150 cm-Säule und die basischen an der 15 cm-Säule. Sollen die basischen besser unterteilt werden, benutzt man eine Säule von 50 cm Länge. Bei Einhaltung der Versuchsbedingungen, wie Temperatur, Zusammensetzung und pH-Wert der Pufferlösung, erhält man gute Trenneffekte, wie aus Diagrammen ersichtlich ist. In einer Tabelle ist die Zusammensetzung der verschiedenen Pufferlösungen aufgeführt. Die Apparatur besteht aus Plexiglas und ist in einer Schnittzeichnung angeben.

¹ Z. Tierphysiol. Tierernähr. **14**, 311–318 (1959). Inst. Anatomie Physiol. der Haustiere, Univ. Bonn.

E. MÜLLER, Würzburg

Über die papierchromatographische Bestimmung aromatischer Aminosäuren (*Tyrosin* und *Phenylalanin*) im Hydrolysat kleiner Mengen radioaktiven Eiweißes berichtet R. MUNIER¹. Nach Hydrolyse von radioaktivem Protein von *E. coli* mit

12 n Salzsäure bei 100° C für 20 Std schwanken in verschiedenen Ansätzen die papierchromatographisch nachzuweisenden Tyrosinmengen. Das ist durch die Bildung veränderlicher Anteile von 3-Chlortyrosin bedingt. Berücksichtigt man diese Chloramino-säure, so sind die Tyrosinwerte nach Hydrolyse konstant. Für das Auftreten von 3-Chlortyrosin ist wahrscheinlich freies Chlor in der Salzsäure verantwortlich. Verf. gibt eine Darstellung von 3-Chlortyrosin und 3,5-Dichlortyrosin und ihre Trennung über Dowex 50 $\times$ 4 an.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) 1, 524—533 (1958). Inst. Pasteur, Paris (Frankreich).
E. MÜLLER, Würzburg

Die papierchromatographische Bestimmung von Tryptophan-Metaboliten in biologischen Flüssigkeiten führen D. COPPINI, C. A. BENASSI und M. MONTORSI¹ aus. Kynurenin, 3-Hydroxy- und N- α -Acetyl-kynurenin, Anthranilsäure, 3-Hydroxy-anthranilsäure, Kynuren- und Xanthurensäure und der 8-Methylester der Xanthurensäure können auf dem Chromatogramm in Mengen zwischen 1 und 5 μ g nachgewiesen, bzw. daraus eluiert und quantitativ bestimmt werden. — Arbeitsweise. Urin (0,1 ml) kann unvorbereitet auf das Papier aufgetragen werden. Blutserum wird vorher enteiweißt, indem man 0,5 ml unter Rühren (magnetischer Rührer) in eine 1:1-Mischung von absol. Alkohol und wasserfreiem Aceton tropfen läßt. Man rührt noch weitere 10 min, zentrifugiert, gießt die überstehende Lösung ab, wäscht den Niederschlag mit 2 ml-Portionen des Aceton-Alkohol-Gemisches und ergänzt den Überstand und die Waschflüssigkeiten auf 10 ml. 0,1 ml dieser Lösung wird zum Versuch verwendet. Rückenmarksflüssigkeit wird zum Sieden erhitzt, 1 Tr. 10%ige Trichloressigsäure zugesetzt, 5 min bei 50° C gehalten und dann zentrifugiert. 0,1 ml der überstehenden Lösung werden in den Versuch eingesetzt. Die zu untersuchenden Proben werden auf 57 $\times$ 46 cm-Streifen Whatman-Papier Nr. 1 aufgetropft, mit warmer Luft angetrocknet und dann zunächst 14 Std bei 20–21° C mit n-Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5) absteigend chromatographiert. Man trocknet bei 40° C und chromatographiert in der anderen Richtung 4 Std bei 20–21° C mit Wasser. Die Flecken werden unter der UV-Lampe aufgesucht, markiert, ausgeschnitten und eluiert. Und zwar werden Kynurensäure, N- α -Acetyl-kynurenin und Xanthurensäure-8-methylester mit 5 ml Äthanol 15–16 Std eluiert und die Absorption der Lösungen bei 243, 227 bzw. 237 nm gemessen. Xanthurensäure, 3-Hydroxykynurenin und 3-Hydroxyanthranilsäure eluiert man mit 3,8 ml Wasser (15–16 Std), setzt 1 ml diazotierte Sulfanilsäure (0,5%ig in 2%iger Salzsäure, vor Gebrauch mit dem gleichen Volumen 0,5%iger Natriumnitritlösung in Wasser mischen), sowie 0,2 ml Pyridin zu (Versuchstemperatur 15° C) und mißt die Absorption bei 510 bzw. 450 nm. Kynurenin und Anthranilsäure eluiert man mit 5 ml einer 1%igen p-Dimethylaminobenzaldehydlösung in 50%iger Essigsäure und mißt die Absorption bei 450 nm.

¹ Clin. Chemistry 5, 391—401 (1959). Univ. Padova und Univ. Modena (Italien).

URSULA BAUMANN

M. FLAVIN und C. SLAUGHTER¹ bestimmen Threonin, indem daraus mittels Perjodatoxydation Acetaldehyd gebildet wird. Ein Überschuß des Perjodats wird durch ein Mercaptan bei Anwesenheit von Dihydrophosphopyridinnucleotid (DPNH) reduziert. Letzteres wird mit Alkoholdehydrogenase oxydiert. — Arbeitsweise. In eine 1 ml-1 cm-Quarzküvette gibt man von der Probe soviel, wie 0,02–0,1 μ mol Threonin entspricht. Nach Zusatz von 0,1 ml Phosphatpuffer (m Kaliumphosphatlösung, pH 7,5) wird mit Wasser zu 1 ml aufgefüllt. Zweckmäßig werden 3 gleiche Küvetten und eine mit Wasser angesetzt. Dann gibt man 0,02 ml 4%ige Natriummeta-perjodatlösung zu und wartet nach dem Mischen 30 sec. Nach Hinzufügen von 0,03 ml Mercaptopropionatlösung (10%ige wäßrige Lösung von 3-Mercaptopropionsäure

mit Kalilauge auf p_H 6 eingestellt) wird gemischt. Nach 30 sec gibt man 0,04 bis 0,05 ml 0,0025 m DPNH-Lösung (p_H 7,5) zu und liest bei 25° C und 340 nm 2 mal hintereinander die Absorption ab, um die Beendigung der Reduktion von Perjodat zu Jodid festzustellen. (Die beiden letztgenannten Reagentien müssen bei 0° C aufbewahrt werden.) Schließlich setzt man 0,02–0,03 ml Alkoholdehydrogenase (siehe unten) zu und liest die Absorption alle 30 sec bei 340 nm ab, bis keine Änderung mehr erfolgt. Der gesamte Abfall der Absorption, korrigiert für die Verdünnung durch die Enzymlösung, ist der Maßstab für den Threoningehalt. — Die *Enzymlösung* war bezogen in Ammoniumsulfatlösung mit 60 mg Protein/ml und wurde bei –20° C aufbewahrt. Zum Gebrauch wurden mehrere Milliliter einer 100:1-Verdünnung mit folgendem Verdünnungsmittel bereitet: 0,1% Rinderserumalbumin, 0,01 m reduziertes neutrales Glutathion und 0,02 m Kaliumpyrophosphat (p_H 7,5).

¹ *Anal. Chem.* **31**, 1983–1984 (1959). Dpt. Health, Educ., Welfare Bethesda, Md. (USA).
B. ROSSMANN

Über die Papierchromatographie und Papierelektrophorese von Aminosäuren und Peptiden biologischen Ursprungs berichten G. BISERTE, P. BOULANGER und P. PAYSANT¹. Verff. geben einen Trennungsgang an, der sich bekannter Verfahren bedient, verhältnismäßig einfach ist, aber nicht so exakte Werte liefert wie etwa die bekannte Methode von MOORE und STEIN. Peptide, die sich von Aminosäuren mit dem Verfahren nicht trennen lassen, kann man dadurch erkennen, daß man vor und nach einer Hydrolyse chromatographiert, so daß dann einige Aminosäuren vermehrt oder zusätzlich auftreten. Die Auswertung erfolgt photometrisch mit der Ninhydrinreaktion entweder direkt auf dem Papier oder nach Elution. Der Gang weist folgende Hauptschritte auf: Homogenisieren mit 75%igem Alkohol; Adsorption des Zentrifugatüberstandes an Amberlite IR-120, H⁺-Form (Taurin und andere Verbindungen laufen durch und können wie das Adsorbat weiter getrennt und bestimmt werden); Elution mit 14 n Ammoniak; Papierelektrophorese des Eluattrockenrückstandes bei p_H 3,9 und rechtwinklig dazu absteigende Chromatographie mit Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5), dabei erzielt man Aufteilung in saure, neutrale und basische Aminosäuren; die neutralen Aminosäuren trennt man nach Elution elektrophoretisch bei p_H 2,4 und rechtwinklig dazu wie oben papierchromatographisch; die basischen eluiert man ebenfalls und erreicht mit Elektrophorese bei p_H 11,7 eine gute Trennung. Die Versuche sind ausführlich beschrieben und mit Abbildungen und Kurven belegt. Die Ergebnisse an gesunden und kranken Organen von *Schwein*, *Ratte* und *Katze* sind in Tabellen zusammengestellt.

¹ *Bull. Soc. Chim. biol.* **40**, 2067–2089 (1958). Fac. Méd. Pharm., Lille (Frankreich).
E. MÜLLER, Würzburg

Die Wirkung von ACTH-Injektionen (Adreno-corticotrophisches Hormon, Corticotrophin) an der Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren prüfen S. RAMASWAMY, H. K. BISWAS und H. K. BANERJEE. Die Versuche werden an Ratten durchgeführt. — *Arbeitsweise*. Die Tiere werden nach der ACTH-Injektion getötet, die Nebennieren in 8 ml Metaphosphorsäure (1:40) zerrieben und der Extrakt filtriert. 4 ml des Filtrates werden sofort mit standardisiertem 2,6-Dichlorphenol-indophenolacetatlösung titriert. Die Ergebnisse aus mehreren Versuchen werden statistisch ausgewertet.

¹ *Sci. and Culture* **25**, 323–324 (1959). General Drugs Labor., Calcutta (Indien)
URSULA BAUMANN

Über die Papierelektrophorese der Proteine in der Schweinemilch zu Beginn der Lactation berichten R. FERRANDO, C. J. VAN OSS und J. FROGET¹. Das Verteilungsmuster der Proteine im Colostrum gleicht weitgehend dem des dazu-

gehörigen Blutserums. Das bei der Kuh schon nachgewiesene² vermehrte Vorkommen von Präalbumin ist auch beim Schwein vorhanden. Bis zum 2. Tage überwiegen die γ -Globuline des langsamen Typs, sie gehen bis zum 5. Tag in die schnellen über und bleiben dann konstant. Am 5. Tag beginnt die Differenzierung der α - und β -Globuline. Die Befunde sind mit Abbildungen belegt.

¹ Bull. Soc. Chim. biol. **41**, 1297—1301 (1959). Ecole Nationale Vétérinaire, Alfort/Seine (Frankreich). — ² SCHULTE, K. E., u. F. MÜLLER: Milchwissenschaft **10**, 130 (1955); vgl. diese Z. **151**, 225 (1956). E. MÜLLER, Würzburg

Den Einfluß der Trägersubstanz auf die Fraktionierung von Proteinen durch Zonenelektrophorese untersuchen E. E. MILLER und P. BERNFELD¹. Bei Verwendung von *Kartoffelstärke*, *Getreidestärke* und einer Mischung von beiden zeigen sich erhebliche Unterschiede in der Wanderungsgeschwindigkeit der *Plasmafraktionen* (*Mäuseblut*). Außerdem ändert sich bei Kartoffelstärke, wahrscheinlich durch Verunreinigungen, der pH -Wert der Pufferlösung, wodurch die Ergebnisse unreproduzierbar werden. Durch Auswaschen der Stärke mit Pufferlösung vor dem Versuch kann diese Fehlerquelle eliminiert werden.

¹ J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 519—524 (1959). Bio-Res. Inst., Cambridge, Mass. (USA).
URSULA BAUMANN

Eine Methode zur kontinuierlichen Elektrophorese, mit der Albumine und Globuline in für die biochemische Analyse ausreichender Menge und Reinheit gewonnen werden, beschreiben D. R. DAVIS und R. E. BUDD¹. — *Arbeitsvorschrift*. 30 ml Serum werden zunächst 20 Std bei 5° C gegen 1 l Veronalpufferlösung (Ionenstärke 0,02) mit 3 maligem Wechsel der Pufferlösung dialysiert, dann wird das Dialysat mit wenig Bromphenolblau schwach angefärbt. Vor Beginn der Elektrophorese wird die Apparatur (Spinco Model CP) mit oberem (Schl. & Sch. Nr. 470) und unterem Papierbogen (Whatman 3 mm) mit gekühlter Pufferlösung so lange eingefahren, bis ein linearer Ablauf erfolgt (Probe mit Farbstoff). Dann erst wird die Probe aus dem 20 mm-Trog aufgegeben und mit konstant 18 Milliamp. (650 V) elektrolysiert. Die Ablaufgeschwindigkeit wird auf 0,15 ml/Std eingestellt. Über eine Zeit von 3 Tagen werden die Fraktionen gesammelt, zu ihrer Identifizierung wird der untere Bogen getrocknet und gefärbt, oder es wird mit einem gewöhnlichen Pherogramm verglichen. Wesentlich für die weitere Analyse der Fraktionen ist deren Einengung, die in Parlodian-Röhrchen erfolgt, die aus 10% iger Celloidinlösung in Äther-Alkoholgemisch (1:1) in Zentrifugenröhrchen gegossen werden. Die Herstellung dieser empfindlichen Röhrchen ist ausführlich beschrieben. Entscheidend für gute Trennungen ist strenge Konstanz von allen Strömungsgeschwindigkeiten, auch vom Serumzufluß und von der Temperatur der zur Kühlung zirkulierenden Pufferlösung (1° C). Die Fehlermöglichkeiten sind eingehend erörtert.

¹ J. Lab. clin. Med. **53**, 958—965 (1959). U.S. Naval Med. School, Bethesda, Md. (USA).
K. CRUSE

Immunoelektrophorese. G. SCHWICK¹ hat in einer Übersicht² zur *Anwendung der Immunoelektrophorese* nach P. GRABAR und C. A. WILLIAMS³ bei *biochemischen und klinischen Problemstellungen* nicht allein die Leistungsfähigkeit der Methode für die Diagnose hervorgehoben (Charakterisierbarkeit von 18 verschiedenen *Proteinen im Serum*), sondern auch auf die dadurch mögliche Anwendung zur Diagnose von Proteinämien (*Nachweis der Veränderungen der γ -Globulin-Komponenten*) hingewiesen. Vorteilhaft für den Biochemiker ist die Empfindlichkeit der Methode, so daß auch klinisch, durch Fermente oder physikalische Einflüsse verursachte Proteinveränderungen nachweisbar sind, die sich vielfach allein in einer

Veränderung der elektrophoretischen Beweglichkeit zu erkennen geben. Auf eine Steigerung der Empfindlichkeit durch Färbemethoden ist ebenfalls hingewiesen.

Auf dem gleichen Symposium berichtet H. E. SCHULTZE⁴ über die quantitative immunologische Bestimmung der Eiweißzusammensetzung im normalen und im pathologisch veränderten Plasma⁵ und unterstreicht die Leistungsfähigkeit der Methode dadurch, daß heute für eine quantitative Analyse nicht mehr als 0,05 ml 1:10 bis 1:400 verdünntes Serum benötigt werden bei einer der Elektrophorese entsprechenden Streubreite, bei jedoch größerer Empfindlichkeit, da Protein-individuen und nicht Proteingruppen erfaßt werden.

¹ Chem. Weekbl. **55**, 701 (1959). Behringwerke AG., Marburg/Lahn. — ² Zusammenfassung eines Vortrags beim „Symposium über moderne Elektrophorese-technik und ihre klinische Anwendung“ am 31. 1. 1959 in Amsterdam. — ³ Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **10**, 193 (1953). — ⁴ Chem. Weekbl. **55**, 702 (1959). Behringwerke, Marburg/Lahn. — ⁵ SCHULTZE, H. E., u. G. SCHWICK: Behringwerk-Mittlg., Heft 35, 1959. K. CRUSE

Zur Verbesserung der Trennwirkung bei immuno-elektrophoretischen Analysen in Gel hat B. BLANC¹ eine 2-dimensionale Methode beschrieben: Gleichzeitig beim Gießen der Gelschicht auf eine möglichst quadratische Glasplatte werden längs der 4 Seiten Papierstreifen mit eingegossen, die so weit überstehen, daß sie — jeweils die gegenüberliegenden — in Pufferlösung (Veronal, pH 8,2, Ionenstärke 0,025) getaucht als Stromzuführung dienen. Es wird erst in einer Richtung, anschließend in der dazu senkrechten Richtung elektrolysiert (180 min mit 5 V/cm bei 18 × 18 cm großer Platte). Die Doppelektrolyse wird zweckmäßig an 2 Platten ausgeführt, so daß eine Platte anschließend fixiert und gefärbt werden kann und die endgültige Wanderungsrichtung erkennbar wird und dementsprechend auf der zweiten Platte beiderseits des Wanderweges (im Abstand von 1,5–3 cm und möglichst parallel hierzu) die Antikörperaufgabe erfolgen kann. Diese Methode liefert an Normalserum nicht nur den sicheren Nachweis für die schnellste γ -Globulinfraktion, sondern auch eine Trennung der β_2 -Globuline und läßt darüber hinaus etwa 10 α_2 -Globulinfraktionen erkennen. Die Auswertung der Analyse und die Einflüsse der Versuchstechnik auf das Pherogramm werden ausführlich erörtert.

¹ Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **41**, 891–899 (1959). Inst. Pasteur, Paris (Frankreich). K. CRUSE

Über immunologische Analyse von Kuhblutserum und -Milch berichtet L. Å. HANSON¹. Immunelektrophoretische Untersuchungen mit homologem Immuns-erum zeigen, daß Kuhblutserum mindestens 21 antigene Faktoren enthält. Davon lassen sich 10–15 in der Milch serologisch identifizieren.

¹ Experientia (Basel) **15**, 471–472 (1959). Dep. Bacteriology, Univ. Gothenburg (Schweden). E. MÜLLER, Würzburg

Eine vergleichende Analyse von Frauenmilch und menschlichem Blutplasma mit Geldiffusionsmethoden stellt L. Å. HANSON¹ an. Er weist mit Immuno-elektrophorese und Doppeldiffusionstechnik in Präcolostrum, Colostrum und Milch der Frau folgende Blutplasma-proteine nach: Präalbumin, Albumin, Azid, Seromucoid, α_1 -Glykoprotein (3,5 S), Coeruloplasmin, Haptoglobin, α_2 - oder β -Lipoprotein, Transferrin, Fibrinogen, β_{2A} -Globulin, β_{2M} -Globulin und γ -Globulin.

¹ Experientia (Basel) **15**, 473–474 (1959). Dep. Bacteriology, Univ. Gothenburg (Schweden). E. MÜLLER, Würzburg

Hochspannungselektrophorese in der Klinik. H. FISCHER und F. WOSEGIEN¹ haben in einem Übersichtsaufsatz über das Prinzip, über die wichtigsten Apparate-typen und über Anwendungsmöglichkeiten der Hochspannungselektrophorese in der

Klinik berichtet. Hervorgehoben werden die Anordnung nach H. MICHL² mit organischen Medien als Kühlflüssigkeit und die Konstruktionen von TH. WIELAND und G. PFLEIDERER³ mit gekühlter Auflagefläche und gleichzeitiger Verminderung des Dochteffektes. Als typische Beispiele werden die *Trennung und Charakterisierung von Peptiden und Polypeptiden*, die *Trennung von Ferment-Proteinen und organischen Phosphaten* (als labile Verbindungen) angeführt. Auch auf die quantitative *Bestimmung pherographisch getrennter Aminosäuren* in einer modifizierten⁴ Methode nach K. DÖSE⁵ wird eingegangen.

¹ Chem. Weekbl. **55**, 690—694 (1959). I. Med. Univ.-Klinik, Frankfurt a. M. —

² Mh. Chem. **82**, 489 (1951); vgl. diese Z. **148**, 62 (1955/56). — ³ Angew. Chem. **67**, 257 (1955); vgl. diese Z. **149**, 125 (1956). — ⁴ RÖWE, K., E. FERBER u. H. FISCHER: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **313**, 174 (1958); vgl. diese Z. **172**, 152 (1960). —

⁵ Biochem. Z. **329**, 416 (1957); vgl. diese Z. **163**, 311 (1958).

K. CRUSE

Über die Titration des Eiweißkörpers Paramyosin berichten W. H. JOHNSON und J. S. KAHN¹. Die Titrationskurve von kristallisiertem Paramyosin in wäßriger Lösung (0,3 m Kaliumchloridlösung) zeigt eine Verschiebung des pK-Wertes der Glutaminsäureanteile. Verf. diskutieren die Möglichkeit, daß diese Erscheinung durch polyanionische Segmente in der Molekel bedingt ist.

¹ Science **130**, 1190—1191 (1959). Physiol. Dep., Univ. Urbana, Ill. (USA).

E. MÜLLER, Würzburg

Über die spektrophotometrische Bestimmung der prozentualen Sauerstoffsättigung und des Sauerstoffgehaltes von Blut mit kernhaltigen Erythrocyten (Hühner) berichtet J. CARLIER¹. In Fortsetzung früherer Arbeiten^{2,3} modifiziert Verf. sein Verfahren, das auf bekannten Methoden fußt, dahin, daß auch Blut mit kernhaltigen Erythrocyten benutzt werden kann. Die Messung erfolgt bei 2 Wellenlängen: im roten Bereich bei 650 nm und im infraroten bei 805 nm, was dem isobestischen Punkt entspricht (gleicher Absorptionskoeffizient für Hb und HbO, somit Kreuzungspunkt der beiden Absorptionskurven). Die Berechnung erfolgt in bekannter Weise. Die Ergebnisse stimmen gut mit denen der klassischen, manometrischen⁴ überein, obwohl man bedeutend weniger Blut benötigt.

¹ Bull. Soc. Chim. biol. **41**, 1113—1121 (1959). Univ. Liège (Belgien). — ² CARLIER, J.: Acta clinica Belgica **11**, 332 (1956). — ³ CARLIER, J.: Bull. Soc. chim. biol. **39**, 995 (1957); vgl. diese Z. **162**, 397 (1958). — ⁴ VAN SLYKE, D. D., u. J. M. NEILL: J. biol. Chemistry **61**, 523 (1924); vgl. diese Z. **75**, 46 (1928).

E. MÜLLER, Würzburg

Über Kontrastfärbung und Bestimmung von Mucopolysacchariden auf Filtrierpapier mit kolloidalem Eisen berichtet A. KAHÁN¹. Es handelt sich um eine Modifikation der Methode von L. FEENEY und W. K. McEWEN². Eine Verbesserung der Resultate erhält Verf. durch 2 Abänderungen des Verfahrens. So läßt sich der Kontrast zwischen Papieruntergrund und Fleck verbessern, wenn man mit Thio glykolsäure differenziert. Die Adsorption von Eisen(III) an Cellulose wird vermindert und das von Mucopolysacchariden adsorbierte Eisen wird als Eisen(III)-ammoniumthioglykolat gefällt. Eine gute Bestimmung erhält man, indem man das Hexacyanoferrat(II) mit heißer Natronlauge eluiert, ansäuert und mit Eisen(III)-chlorid in Preußischblau überführt. Die Untersuchungen sind mit reinen Substanzen, *Glaskörperhyaluronat*, *Zellwand-Mucopolysaccharid von Micrococcus lysodeicticus* und *Heparin* durchgeführt worden und mit Abbildungen belegt.

¹ Stain Technol. **34**, 249—256 (1959). Univ. Med. School, Szeged (Ungarn). —

² Stain Technol. **31**, 135 (1956).

E. MÜLLER, Würzburg

Papierelektrophorese von Serum-Lipoproteiden. E. L. KANABROCKI, E. KAPLAN, D. S. KINNORY, A. A. IMPERATO, J. E. BERRY und L. A. BAKER¹ haben die papierelektrophoretische Bestimmung von Serum-Lipoproteinen nach der Methode von H. J. McDONALD und E. W. BERMES, jr.² modifiziert und eine Reihe von Fehlern dadurch behoben, daß das Serum *vor* der Elektrophorese gefärbt wird. — *Arbeitsvorschrift.* 1,0 ml klares, zellfreies und nicht hämolysiertes Serum wird tropfenweise unter stetem Umschütteln mit 0,1 ml einer Sudanschwarz B-Lösung versetzt, die aus 0,5 g Farbstoff in 100 ml 95%igem Alkohol hergestellt, 24 Std sich selbst überlassen und dann durch ein 7faches Whatman-Filter Nr. 42 filtriert ist. Man läßt den Farbstoff 30 min einwirken und belüftet dann 30 min durch Hindurchleiten von Luft, ebenso nach abermaliger Zugabe von 0,1 ml Farbstofflösung. Zur Elektrophorese werden 4 mal je 10 µl des gefärbten Serums auf den mit Veronalpufferlösung (pH 8,6, Ionenstärke 0,05) äquilibrierten Whatman-Nr. 1-Streifen von 1,3 × 30 cm aufgetragen. Im Spinco-Gerät wird dann 16—19 Std mit 75 V (etwa 5 Milliamp.) elektrolysiert. Der Streifen wird unmittelbar nach dem Trocknen bei Raumtemperatur und im Dunkeln mit klarem acrylic-plastic-sealer (Champion Bronze Powder and Paint Co., Inc., Chicago 12) besprüht, an der Luft getrocknet und auf ein Whatman-Papier aufgelegt, mit Transparentfolie fixiert, im Spinco-Analytrol bei entferntem Blaufilter und 0,15 cm Spaltbreite analysiert und in der für Serumprotein üblichen Weise auch für Lipoproteine ausgewertet. An 24 Normalserumproben werden 39,2% α - und 60,8% β -Lipoproteine festgestellt. Die Abweichung zwischen 2 Parallelproben liegt bei $\pm 3,5\%$. Das Verhältnis von β zu α -Lipoprotein wird zu $1,5 \pm 0,4$, in 31 Serumproben Kranker (Arteriosklerose) zu $3,7 \pm 1,2$ erhalten. Die Ergebnisse sind bis zu Auftragsmengen von 60 µl dieser Menge linear proportional. Die Farbstofflösung kann bei 7° C bis zu 28 Tagen gelagert werden.

¹ Clin. Chemistry 4, 382—391 (1958). Veterans Administration Hospital, Hines, Ill. (USA). — ² Clin. Chemistry 2, 257 (1956). K. CRUSE

Zur Bestimmung von Glycerin in Blut-Glycerinmischungen arbeiten C. A. CRUTCHFIELD jr. und H. A. SLOVITER¹ eine verhältnismäßig einfache Methode aus, die auf der Oxydation der einteiweißen Lösung mit Perjodat beruht. — *Arbeitsweise.* Herstellung von proteinfreiem Filtrat. Eine genau abgemessene Menge Blut (die insgesamt nicht mehr als 0,4 g Glycerin + Glucose enthalten soll) wird in einem 50 ml-Becherglas mit 5 ml Wasser gemischt. Durch tropfenweises Zugabe von 6 ml 20%iger Trichloressigsäurelösung in der Kälte wird das Protein gefällt. Man läßt 1 Std bei 5° C stehen, filtriert durch ein mit 10%iger Trichloressigsäure befeuchtetes Filter in einen 100 ml-Kolben, wäscht 3 mal mit je 5 ml 10%iger Trichloressigsäure und füllt mit Wasser zur Marke auf. — *Direkte Titration.* 10 ml des proteinfreien Filtrats werden in einem 100 ml-Meßkolben mit 1 Tr. Bromkresolpurpur-Indicator (0,1%ig in Alkohol) versetzt und mit 10%iger Naronlange bis gerade zur alkalischen Reaktion neutralisiert. Nach Zugabe von 50 ml 0,02 m Natriumperiodatlösung läßt man 2 Std stehen, verdünnt dann zur Marke und mischt. 20 ml werden in einem 125 ml-Erlenmeyer-Kolben mit (etwa 10 ml) 10%iger Na₂HPO₄ · 12 H₂O-Lösung deutlich alkalisch gemacht und mit 0,5 g KJ versetzt. Das freigemachte Jod wird mit 0,02 n Arsenitlösung und Stärke als Indicator titriert (Verbrauch A ml). — *Titration nach Behandlung mit Alkali.* Weitere 10 ml des oben erhaltenen proteinfreien Filtrates werden in einem 125 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 1 Tr. Bromkresolpurpur-Indicatorlösung sowie mit 10%iger Natronlange bis zum Neutralpunkt und weiteren 2 ml im Überschuß versetzt. Man kocht 1 min gelinde, läßt 5 min abkühlen, fügt 1:1 verd. Schwefelsäure bis zur sauren Reaktion und 2 Tr. im Überschuß zu, kocht 1 min vorsichtig und läßt den Kolben in kaltem Wasser abkühlen.

Mit 10% iger Natronlauge wird gerade alkalisch gemacht und die Lösung quantitativ in einen 100 ml-Kolben übergeführt. Nach Zugabe von Perjodat wird die Bestimmung wie oben beendet (Verbrauch B ml). Milligramm Glycerin in der Gesamtprobe = 5,650 B — 1,045 A. Milligramm Glucose = 4,420 (A — B). Die Fehlergrenze beträgt $\pm 1,4\%$

¹ J. Lab. clin. Med. 54, 478—483 (1959). School of Med., Univ. Philadelphia, Pa. (USA).
JOHANNA SEPP

Die Bestimmung von Thyroxin im Blut durch doppelte Isotopenverdünnungsanalyse beschreiben J. K. WHITEHEAD und D. BEALE¹ eine in Anlehnung an das Verfahren von WHITEHEAD² entwickelte Methode. Sie benutzt die Acetylierung des Thyroxins mit ³H-markiertem Essigsäureanhydrid, Zugabe einer bekannte Menge ¹⁴C-markierten Acetylthyroxins oder ¹³¹I-Thyroxins als Trägersubstanz und die chromatographische Isolierung. Die Genauigkeit beträgt 2—3%. Die Thyroxinwerte im menschlichen Blut liegen bei Schilddrüsenunterfunktion zwischen 0 und 3,5 µg/100 ml, normal zwischen 3,0 und 6,5 µg/100 ml und bei Überfunktion über 6,5 µg/100 ml. — *Arbeitsweise.* 1. *Verwendung von ¹⁴C-Acetylthyroxin als Trägersubstanz.* Man pipettiert 5 ml Serum in einen 100 ml-Kolben, setzt 0,2 ml 2 n Natronlauge zu und acetyliert durch 5 mal aufeinanderfolgende Zugabe von jeweils 0,2 ml markiertem Essigsäureanhydrid-Reagens (5 ml/mg in Toluol; spez. Aktivität 60 m C/mMol) und je 0,2 ml 0,1 n Natronlauge nach dem früher beschriebenen Verfahren². Während der Acetylierung wird das Serum mit 5 ml Äther bedeckt, um Schaumbildung zu vermeiden. Danach gibt man etwa 100 µg des ¹⁴C-Acetylthyroxin-Standards (Herstellung siehe Original) in das Reaktionsgemisch und dampft im Hochvakuum auf 2 ml ein. Man säuert die Lösung mit 10% iger Essigsäure bis pH 6 an, setzt 7,5 ml Äthanol zu, zentrifugiert bei 0° C und gießt die überstehende Lösung (I) in ein sauberes Zentrifugenglas ab. Der Proteinniederschlag wird mit 3 ml Wasser und nochmals mit 7,5 ml Äthanol versetzt, worauf man wieder bei 0° C zentrifugiert und die überstehende Lösung (II) abgießt. Zu I und II kommen je 1 ml 2 n Ammoniak, dann 5 ml Chloroform. Man trennt die Schichten durch Zentrifugieren, saugt die Chloroformschicht ab, wäscht sie mit 5 ml Wasser und vereinigt die wäßrigen Schichten. Nun vereinigt man die Schichten aus I und II, setzt 2 ml Calciumacetatlösung (7 g Calciumhydroxyd + 10 ml Eisessig in 200 ml) zu und zentrifugiert die ausfallenden Fettsäuren ab. Die überstehende Lösung schickt man durch eine Ionenaustauschersäule (1 cm Ø), die 3 g Zeokarb 225 (saure Form, suspendiert in Äthanol-Wasser[1:1]), enthält und wäscht mit Äthanol-2 n Ammoniak (1:1) nach, bis die dunkle Front das Ende der Kolonne erreicht hat. Das Eluat wird mit 2 n Ammoniak auf pH 9 gebracht und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Den Rückstand nimmt man in 4 ml Wasser auf, setzt 1 ml 10% ige Essigsäure zu, extrahiert einmal mit 10 ml-, dreimal mit je 5 ml-Portionen n-Butanol Chloroform (30% ig, halbgesättigt mit Wasser), isoliert die Chloroformschichten und dampft sie zur Trockne ein. Den Rückstand nimmt man in 0,2 ml Äthanol-2 n Ammoniak (1:1) auf, bringt die Lösung auf Whatman-2-Papier auf und chromatographiert zunächst mit Aceton-2 n Ammoniak (1:1) nach der Methode von BUSH³, dann zweidimensional mit n-Butanol-Methanol-2 n Ammoniak (4:1:5) und Äthylacetat-Methanol-2 n Ammoniak (4:1,5:1,9), wie von WHITEHEAD² beschrieben. Das Acetylthyroxin wird mit 5% iger Sodalösung und diazotierter Sulfanilsäurelösung sichtbar gemacht, der Fleck ausgeschnitten und im Sauerstoffstrom verbrannt. Die Aktivität des entstehenden Kohlendioxyds und Wassers wird wie beschrieben² gemessen und der Thyroxingehalt wie unten angegeben berechnet. — 2. *Verwendung von ¹³¹I-markiertem Thyroxin als Trägersubstanz. a) ohne Extraktion.* Zu 5 ml Serum gibt man 0,01 µg ¹³¹I-Thyroxin, acetyliert auf die oben beschriebene

Weise und isoliert das Acetylthyroxin. Die ^{131}J -Aktivität wird im Geigerzähler, die ^3H -Aktivität nach Verbrennung (siehe oben) gemessen. Ebenso wird $0,01\text{ }\mu\text{g}$ ^{131}J -Thyroxin auf das Papier aufgebracht und auch gemessen. Die Berechnung erfolgt wie unten angegeben. — b) mit *Extraktion*. Das mit $0,01\text{ }\mu\text{g}$ markiertem Thyroxin versetzte Serum (5 ml) wird mit n-Schwefelsäure auf pH 2–3 eingestellt und zweimal mit je $12,5\text{ ml}$ n-Butanol (mit Natriumthiosulfatlösung gesättigt) extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit Methanol-5 n-Ammoniak (4:1) alkalisch gemacht und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Man nimmt den Rückstand in $0,4\text{ ml}$ 2 n-Natronlauge auf, ergänzt das Volumen mit Wasser auf 5 ml , acetyliert dann und verfährt weiter wie oben beschrieben. — Die Thyroxinmengen X in Mikrogramm berechnet man nach folgenden Formeln: Für 1: $X = C_a \cdot H_b \cdot m / C_a \cdot H_b$; Für 2: $X = [I_a \cdot H_b \cdot m \cdot P / I_a \cdot H_b \cdot 100] - y$. Hierbei bedeuten: C = Aktivität des zugegebenen ^{14}C -Acetylthyroxins in Impulsen/Minute; H_b = ^3H -Aktivität in isolierten Acetylthyroxin in Impulsen/Minute; C_a = ^{14}C -Aktivität im isolierten Acetylthyroxin in Impulsen/Minute; H_a = Äquivalent-Aktivität des ^3H -Essigsäureanhydrids in Impulsen/Minute/ $\mu\text{Äquiv.}$; m = Mikromolekulargewicht des Thyroxins; I_a = Aktivität des zugesetzten ^{121}J -Thyroxins in Impulsen/Minute; P = isotopische Reinheit des Thyroxins; I_b = ^{131}I -Aktivität des isolierten Acetylthyroxins in Impulsen/Minute; y = Gewicht des zugegebenen ^{131}I -Thyroxins.

¹ Clin. chim. Acta (Amsterdam) 4, 710–720 (1959). Middlesex Hosp., London (England). — ² WHITEHEAD, J. K.: Biochemic. J. 68, 662 (1958). — ³ BUSH, I. E.: Biochemic. J. 50, 370 (1952); vgl. diese Z. 137, 440 (1952/53).

URSULA BAUMANN

Einen Überblick über die Mikromethoden zur Trennung und chemischem Nachweis der Lipidgruppen (Cholesterin, Triglyceride und Phospholipide) gibt E. VAN HANDEL¹.

¹ J. Amer. Oil Chemists Soc. 36, 194–297 (1959). Univ. Memphis, Tenn. and Public Health Res. Lab., Stuart, Fla. (USA).

URSULA BAUMANN

5. Toxikologische Analyse

Alkaloide. Die systematische Analyse von Alkaloiden mit Hilfe der Papierchromatographie für forensische Zwecke führt D. WALDI¹ nach folgendem Verfahren durch. Man stellt zunächst aus dem vorliegenden Untersuchungsmaterial wie Harn usw. nach bekannten Methoden, erforderlichenfalls nach Entfernung störender Begleitstoffe (anorganische Salze) mittels Austauschverfahren oder durch adsorptive Abtrennung eine $0,1$ – 1% ige Lösung des zu identifizierenden Alkaloides in Form seiner Base her. Dann bringt man auf eine Palette 1 mal 5, 2 mal 5, 3 mal 5 usw. Milliliter dieser Lösung, betrachtet nach dem Trocknen im kurzwelligen UV-Licht und besprüht anschließend mit Jodplattatlösung (siehe unten), die mit Alkaloiden blaue bis violette Flecke auf leicht rosafarbenem Untergrund gibt. Hat man so die für die Erkennung erforderliche Mindestauftragsmenge festgestellt, so beschriftet man mit dieser die Startpunkte zweier Keilstreifen von 150 mm Länge und 20 mm Breite aus formamidgetränktem Papier (siehe unten). Man entwickelt in 2 Reagensgläsern ($160 \times 26\text{ mm}$) mit den Fließmitteln I: Chloroform-Diäthylamin ($9 + 1$) und II: Cyclohexan-Diäthylamin ($9 + 1$), trocknet 7 min bei 110 bis 120°C und stellt unter der UV-Lampe bzw. durch Besprühen die Lage des Alkaloidflecks fest. Je nach seiner Stellung auf dem Chromatogramm läßt sich das Alkaloid in eine der folgenden Gruppen einreihen: Gruppe 1: Die Alkaloide wandern mit I mit einem bestimmten R_f -Wert; hierher gehören *Sarpagin* (*Raupin*), *Neoaajmalin*,

Narcein, Ergometrin, Morphin, Cuprein, Berberin, Pilocarpin, Serpentin, Veratridin, Dihydromorphinon, Boldin, Hydrastinin, Coffein, Ergometrinin, Colchicin. Solamin bleibt am Startpunkt. Gruppe 2: Sie wandern mit I an der Lösungsmittelfront und bleiben mit II am Startpunkt: *Dihydroergotamin, Ergotamin, Ergotaminin, Ergocristin, Ergocristinin, Dihydroergocristin, Serpentinin, Brucin, Cotarnin* und *Apomorphin*. Gruppe 3: Die Alkaloide wandern mit II mit einem definierten R-Wert: *Ergocristin, Cephaelin, Physostigmin, Strychnin, Dihydrocodeinon, Papaverin, Scopolin, Scopolamin, Bulbocapnin, Codein, Yohimbin, Dihydrocodein, Ajmalin, Cathin, Reserpin, Eucodal, Procain, Homatropin, Gelseminin, Hordenin, Äthylmorphin, Atropin, Thebain, Emetin, Narcotin, Chinin, Rauwolfscin, Ephedrin, Chinidin, Cinchonin, Aconitin, Amphetamin, Lobelin, Cocain, Cevadin, Eupaverin, Reserpin* und *Aspidospermin*. Gruppe 4: Diese Alkaloide wandern mit II an der Lösungsmittelfront, es sind *Raubasin, Nicotin, Tropacocain, Psicain Neu, Apotropin* und *Spartein*. Nach Feststellung der Gruppenzugehörigkeit beschickt man die Startlinie von 4 formamidimprägnierten Papierbogen (siehe unten) mit der vorher ermittelten Menge der Analysenlösung, mit Standardlösungen von Codein und Dihydromorphin sowie mit Lösungen von Alkaloiden, deren Vorhandensein man auf Grund der Vorproben vermutet und entwickelt mit folgenden Fließmitteln: Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (5 + 4 + 1); Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (3 + 6 + 1); Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (1 + 8 + 1) und Chloroform-Diäthylamin (9 + 1). Die Entwicklungszeit beträgt 2,5 Std, die Sichtbarmachung erfolgt wie bei den Keilstreifen. Das Original enthält Tabellen mit den R-Bezugswerten und Fluoreszenzfarben der angeführten Alkaloide sowie zahlreiche Diagramme mit Bezugswerten für die Trennung von Alkaloidgruppen. *Jodplateatlösung*. Man mischt gleiche Teile wäßriger 1,1%iger Kaliumjodid- und 0,135%iger Platinchloridchlorwasserstofflösung. *Formamid-imprägniertes Papier*. Man trinkt 30 × 29 cm große Bogen Schl. & Sch.-Papier 2043 b mit einer Formamid-Acetonlösung (2 + 8) und preßt den Überschub der Lösung ab.

¹ Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **292**, 206–220 (1959). Kontroll-Lab., Fa. E. Merck AG., Darmstadt. K. SÖLLNER

Für die papierchromatographische (p-chr) Trennung und Identifizierung von Alkaloiden bei toxikologischen Analysen empfehlen CH. DORIER, J. DAUPHIN, J.-C. REDON und J.-A. BERGER¹ folgende Arbeitsweise. Man teigt 1 kg des homogenierten Organbreies mit 1600 ml 95%igem Äthanol an, versetzt mit 10%iger Weinsäurelösung bis zur deutlich sauren Reaktion, läßt den Ansatz 12 Std bei 50° C stehen und filtriert unter Nachwaschen des Rückstandes. Nach Stehen des Filtrates über Nacht im Kühlschrank trennt man die inzwischen ausgeschiedene Fällung ab, wäscht diese, bis das Filtrat ein Gesamtvolumen von 2000 ml erreicht hat und engt diese Lösung im Vakuum auf 200 ml ein. 20 ml dieses Konzentrates, die mindestens 25 µg des zu identifizierenden Alkaloides enthalten sollen, dampft man vorsichtig bis fast zur Trockne ein, dann nimmt man den Rückstand in 10 ml abs. Äthanol auf, zentrifugiert und verdampft die abgehobene blanke Flüssigkeit erneut zur Trockne. Den hierbei entstandenen Rückstand löst man in 20 ml Wasser, säuert die Lösung mit etwas Weinsäure an und schüttelt intensiv mit 20 ml Äther aus. Die mit etwas Weinsäurelösung gewaschene Ätherschicht dampft man zur Trockne ein (Rückstand A). Nun alkalisiert man die wäßrige Lösung vorsichtig durch Zugabe von festem Natriumhydrogencarbonat auf pH 8, schüttelt sie 2 mal mit je 10 ml Äther aus und dampft auch diese Auszüge ein (Rückstand B). Die anschließende p-chr Entwicklung führt man absteigend auf unterschiedlich gepuffertem Whatman Nr. 2-Papier durch, indem man dieses mit Pufferlösung tränkt und an der Luft trocknen läßt. Als Puffer verwendet man folgende

Mischungen: pH 3: 790 ml 0,1 m Weinsäurelösung + 210 ml 0,2 m Na_2HPO_4 -Lösung; pH 5: 480 ml 0,1 m Weinsäurelösung + 520 ml 0,2 m Na_2HPO_4 -Lösung; pH 6,5: 680 ml 0,067 m KH_2PO_4 -Lösung + 320 ml 0,067 m Na_2HPO_4 -Lösung; pH 7,5: 164 ml 0,067 m KH_2PO_4 -Lösung + 836 ml 0,067 m Na_2HPO_4 -Lösung. Man trägt die in etwas abs. Äthanol gelösten Rückstände ($\sim 0,5\%$ ige Lösung) A oder B auf ($\sim 25 \mu g$ je Fleck) und verwendet als Fließmittel n-Butanol, das mit der, dem pH -Wert des Papierses entsprechenden Pufferlösung gesättigt ist. Die an der Luft getrockneten P-*chr* besprüht man mit einer Mischung von 45 ml 10%iger Kaliumjodidlösung, 5 ml 5%iger Platinchloridlösung und 100 ml Wasser. Die Alkaloide zeichnen sich als braune, blaue oder violette Flecken auf rötlichem Untergrund ab. Das Original enthält Photos von derart hergestellten P-*chr* und einige Anwendungsbeispiele.

¹ Bull. Soc. chim. France **1959**, 620—624. Fac. Méd. Pharmac. Clermond-Ferrand (Frankreich).
K. SÖLLNER

Für die mikro-elektrophoretische (*m-e*) Identifizierung toxikologisch wichtiger Alkaloide im Vergleich mit deren papierchromatographischen (*p-chr*) Entwicklung schreiben CH. BUFF, J. ORANTES und P. L. KIRK¹ folgende Arbeitsweise vor: *M-E*. Man belegt den waagrecht gestellten Tisch eines Apparates von A. KARLER, C. L. BROWN und P. L. KIRK² mit $7 \times 17,5$ cm großen Streifen von Whatman-Papier Nr. 1, welches man in der Mitte auf eine Länge von 10 cm in 0,4 cm breite Streifen zerschnitten hat. Die unzerschnittenen Enden des mit Pufferlösung getränkten Papierses tauchen in die entsprechende Pufferlösung ein. Von diesen verwendet man Gemische von der im vorstehenden Referat angegebenen Zusammensetzung (jedoch mit Citronensäure an Stelle von Weinsäure). Die etwa $50 \mu g$ betragenden Alkaloidproben saugt man auf $0,4 \times 0,4$ cm großen Whatman Nr. 1-Stückchen auf und bringt diese auf die Mitte der Entwicklungstreifen. Man führt die *M-E* während 1 Std mit 3 mA Stromstärke und 175 V Spannung durch. Nach dem Trocknen im Wärmeluftstrom besprüht man mit einer Mischung aus 1 Teil 10%iger Platinchloridlösung, 25 Teilen 4%iger Kaliumjodidlösung und 24 Teilen dest. Wasser. Für die *p-chr*-Entwicklung der Alkaloide nach der Technik von L. R. GOLDBAUM und L. KAZYAK³ tränkt man 4×40 cm lange Whatman Nr. 11-Streifen mit der jeweiligen Pufferlösung, läßt sie an der Luft trocknen, beschickt die Startlinie mit je $50 \mu g$ Alkaloid in Äthanol und entwickelt mit n-Butanol, das mit der gleichen Pufferlösung gesättigt ist. Nach 15stündiger aufsteigender Entwicklung lokalisiert man die Substanzen im UV-Licht oder durch Besprühen mit Jodoplatinatlösung und ermittelt die R_f -Werte sowie die Verhältnisse der R_f -Werte zu denen von Codein (Tabellen im Original).

¹ Microchemic. J. **3**, 13—18 (1959). Univ. Berkely, Calif. (USA). — ² Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1585; vgl. diese Z. **157**, 442 (1957). — ³ Analyt. Chemistry **28**, 1289 (1956); vgl. diese Z. **157**, 230 (1957).
K. SÖLLNER

Über die Identifizierung von Arzneimitteln und toxischen Verbindungen mit Hilfe der UV-Spektrophotometrie berichtet L. A. WILLIAMS¹. Nach allgemeinen Bemerkungen über Theorie und Anwendung gibt der Verf. einen kurzen Überblick über die zur Verfügung stehenden Instrumente und die einschlägige Literatur und erwähnt schließlich noch die Vorteile der Differentialspektrophotometrie (wobei hauptsächlich die Messung bei verschiedenen pH -Werten in Frage kommt).

¹ J. forensic. Sci. **4**, 492—498 (1959). Med. Exam. Wayne County, Detroit, Mich. (USA).
JOHANNA SEPP